

POTENSI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN BIJI ADAS (*Foeniculum vulgare* Mill) SEBAGAI PENANGKAP RADIKAL BEBAS

Lutfi Suhendra, I Wayan Arnata

Jurusan Teknologi Industri Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Udayana

ABSTRACT

Target of this research was to obtain solvent type, to obtain ability on antiradical, and to find out optimum concentration of extract powder of fennel seed. This research consisted of two phases that the first phase was determination of total phenol and antioxidant activity using TBA method at various solvent type. Solvent used for extraction was ethanol and acetate ethyl. The concentrations of the solvent were 0, 15, 30, 45, 60, 75 and 90%. Antioxidant activity resulted from each variation of type and concentration of solvent was used for the examination in the second phase in determining antiradical activity by DPPH. Variation of concentration of fennel extract was 100, 250, 500, 750 and 1000 µg/ml yielded from type of ethanol and acetate acid solvents.

Obtained data of each treatment was plotted in a graph. Data validity was analyzed using appropriate regression analysis on plotted data in graph. Result of research indicated that antioxidant active compound extracted using acetate ethyl solvent was higher than that using ethanol solvent. Optimum concentration of extract of fennel powder from ethanol and acetate ethyl solvent in scavenging free radical was 975 ppm and 850 ppm.

Keywords: antioxidant, antiradical, ethanol, ethyl acetate and fennel extract.

PENDAHULUAN

Radikal bebas dapat menginduksi penyakit kanker, arteriosclerosis dan penuaan dini yang disebabkan kerusakan jaringan karena oksidasi sehingga diperlukan antioksidan yang mampu menangkap radikal bebas (Kikuzaki dan Nakatami, 1993). Potensi antioksidan yang berhubungan dengan *reactive oxygen spesies* (ROS) adalah sebagai penghambat radikal superoksida, singlet oksigen, hidrogen peroksida, peroksida lemak, asam hipoklor, radikal alkosil, radikal peroksil, oksida nitrit, nitrogen dioksida, peroksi nitrit dan radikal hidroksi (Auroma *et al.*, 1997). Hal ini dapat melindungi sel dari kerusakan oksidatif dan meminimalkan kerusakan sel, sehingga dapat mengurangi proses penuaan dan mencegah penyakit degeneratif seperti jantung, diabetes militus dan kanker.

Dewi *et al.* (2005) melaporkan ekstrak *Aloe vera* sebagai penangkap radikal bertanggung jawab dalam terminasi radikal bebas dan berkemampuan sebagai anti lipid peroksidasi baik pada asam linoleat maupun liposom. Tinggi rendahnya aktivitas antioksidan dipengaruhi oleh kandungan ekstrak dalam sistem dan tingkat klarifikasi. Rohman dan Riyanto (2005) melap-

orkan ekstrak metanol, chlorofom dan etil asetat buah mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) menunjukkan aktivitas antioksidan ekstrak etil asetat > ekstrak khlorofom > ekstrak metanol pada konsentrasi yang sama. Aktivitas radikal bebas ekstrak etil asetat > ekstrak khloroform > ekstrak metnol.

Kikuzaki dan Nakatami (1993) melaporkan bahwa aktivitas antioksidan pada ekstraksi dan fraksi jahe diukur menggunakan pengukuran FTC dengan metode TBA pada konsentrasi 0.02% dalam larutan etanol cair. Selama proses oksidasi, peroksida berangsur-angsur terpecah menjadi senyawa-senyawa dengan molekul kecil. Nilai absorbansi rendah berindikasi level tinggi pada aktivitas antioksidan. Santosa *et al.* (2000) ekstrak etanol jahe, kencur dan temulawak mempunyai aktivitas daya tangkap radikal tinggi pada pengujian menggunakan diphenylpierylhydrazyl (DPPH) dan lebih tinggi dibandingkan BHA. Ekstrak daun kemangi dengan menggunakan etanol 0.25 mg/g contoh diperoleh aktivitas daya tangkap radikal bebas paling tinggi Widyawati (2005). Safitriani (2005) melaporkan ekstrak temu lawak dengan etanol 95% mempunyai aktivitas antioksidan tertinggi. Ekstraksi teh hijau dengan menggunakan dichlorometane 100 µg/ml menghambat oksidasi heksanal paling efektif (Yanagimoto *et al.*, 2003).

Ekstrak sekuensial heksana-aseton-etanol (ESHA) dan ekstrak sekunsial heksana-aseton (ESHA) mempunyai stabilitas pada pemanasan pada suhu 100°C selama 120 menit terhadap penangkap radikal bebas. ESHA dan ESHA menurun aktivitas antioksidannya pada pemanasan suhu 180°C selama 60 menit. Ekstrak ESHA dan ESHA menunjukkan stabilitas terhadap cahaya flouresen dan cahaya ultraviolet selama 5 jam (Suryanto *et al.*, 2005).

Kandungan biji adas adalah d-Pinena, camphene, d- α -phellandrene, dipentene, anethole, d-fenchone, estragol, foeniculin, aldehyd, amilaldehyd dan asam anesat (Ketaren, 1985). Senyawa fenol, flavonoid, isoflavon, terpene, glikosinolat dan senyawa lain yang ada dalam bahan pangan dapat bersifat antioksidan. Kemampuan menangkap radikal bebas dari senyawa ini disebabkan adanya donor hidrogen oleh senyawa fenolik. Antioksidan alami dapat diperoleh dari kacang-kacangan, biji-bijian, cereal, sayuran, buah-buahan, teh, rempah-rempah, hewan dan mikroba (Hall, 2001). Antioksidan alami telah banyak diteliti dan telah terbukti mempunyai kemampuan antioksidan yang tinggi sebagai antioksidan primer ataupun antioksidan sekunder seperti *catechin* pada teh, *curcumanoid* pada kunyit, β -*caroten* pada wortel dan *gingerol* pada jahe.

Biji adas (*Foeniculum vulgare Mill*) sebagai tanaman rempah-rempah telah banyak digunakan oleh masyarakat Indonesia sebagai penyedap masakan. Kandungan minyak atsiri seperti limonina yang mengharumkan, sedangkan kandungan flavonoida-nya berkhasiat menyembuhkan radang. Minyak atsiri juga bisa membunuh mikroba. Buahnya mengandung minyak volatile (anetol, pinen, felandren, dipenten, fenchon, metilchavikol, anisaldehyda, asam anisat, kamfen) dan minyak lemak. Kandungan adas hitam juga membantu mengeluarkan angin, dan mendorong pengeluaran air seni, batuk pada anak-anak, sakit perut pada anak, diare, mual, kembung dan ambeien (Anon., 2000). Oleh karena itu sangat menarik pengkajian kemampuan menangkap radikal bebas, jenis dan konsentrasi pelarut untuk memperoleh senyawa fenolik tinggi dan aktivitas antioksidan dari tanaman biji adas.

Tujuan penelitian ini adalah mengidentifikasi jenis pelarut dan konsentrasi pelarut yang tepat untuk memperoleh rendemen senyawa fenolik biji adas dan aktivitas antioksidan yang tinggi, mengidentifikasi potensi antioksidan dan antiradikal bebas biji adas (*Foeniculum vulgare Mill*), menentukan konsentrasi ekstrak biji adas yang optimum untuk memperoleh aktivitas antiradikal maksimum.

METODE PENELITIAN

Bahan Baku dan Bahan Kimia

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Biji adas (*Foeniculum vulgare Mill*) yang diperoleh dari pasar lokal tradisional di Bali. Bahan kimia yang digunakan adalah etanol, etil asetat, *Folin ciocalteu phenol*, (+)-asam gallat, sodium karbonat dibeli dari Merc, BHT dari Brathaco Chemical, radikal DPPH (2,2-dhiphenil-1-picryldhidrazyll radikal) dibeli dari Sigma, tiobarbituric acid dari Merc. Alat yang digunakan meliputi Spektrofotometer, vacum rotary evaporator, vortek, stirrer, sintrifuge dan blander.

Perlakuan dan Analisis statistik

Penelitian ini terdiri dari 2 (dua) tahap: Tahap 1: Total fenol dan aktivitas antioksidan dengan metode TBA pada variasi jenis dan konsentrasi pelarut ekstraksi:

- Etanol : 0, 15, 30, 45, 60, 75 dan 90%
- Etil asetat: 0, 15, 30, 60, 75 dan 90%

Hasil aktivitas antioksidan tertinggi dari masing-masing variasi jenis dan konsentrasi pelarut ekstraksi digunakan untuk pengujian tahap 2.

Tahap 2: aktivitas antiradikal dengan DPPH pada variasi konsentrasi ekstrak adas dari beberapa jenis pelarut:

- Konsentrasi ekstrak adas dengan pelarut etanol: 100, 250, 500, 750 dan 1000 $\mu\text{g/ml}$
- Konsentrasi ekstrak adas dengan pelarut etil asetat: 100, 250, 500, 750 dan 1000 $\mu\text{g/ml}$.

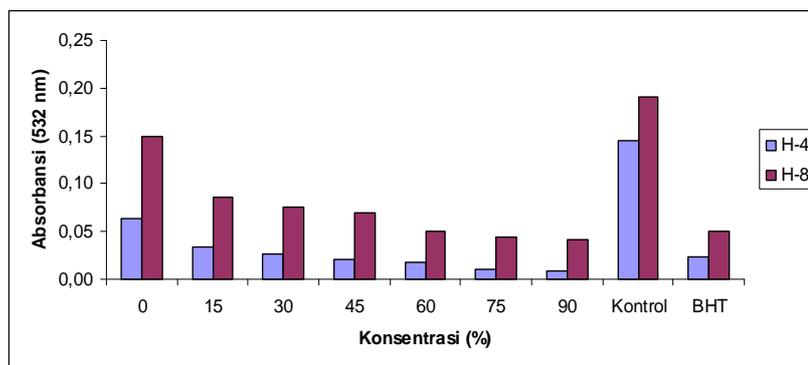
Data masing-masing perlakuan yang diperoleh dicatat dan dilakukan plot data dalam grafik.

Validitas data untuk mengetahui besarnya pengaruh perlakuan terhadap hasil percobaan digunakan analisis regresi yang sesuai (nilai R^2 tertinggi) pada plot data dalam grafik.

Pelaksanaan Percobaan

Ekstraksi komponen fenolik biji adas (*Foeniculum vulgare Mill*) (Modifikasi Metode Julkunen-Tiito, 1985)

Biji adas dihancurkan. Bubuk adas diambil 50 g ditambah 150 ml pelarut etanol dan etil asetat dengan konsentrasi 0, 15, 30, 45, 60, 75 dan 90%, kemudian diaduk dengan magnetik stirrer selama 1 jam pada suhu kamar. Selanjutnya disaring dengan kertas whatman no. 42, sehingga diperoleh filtrate 1. Ampas yang diperoleh dilakukan ekstraksi ulang, sehingga diperoleh filtrate 2. Filtrat 1 dan filtat 2 dicampur kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator*. Ekstrak tersebut diuji total fenol dan aktivitas antioksidan dengan metode TBA. Masing-masing ekstraksi pada variasi jenis pelarut pada konsentrasi pelarut yang mempunyai aktivitas tertinggi digunakan untuk membuat seri konsentrasi untuk digunakan uji aktivitas antiradikal. Selanjutnya dilakukan uji komparatif aktivitas antioksidan antara ekstrak adas dan BHT. Diagram alir ekstraksi komponen antioksidan bubuk adas pembuatan pada Gambar 1.



Gambar 3. Antioksidan ekstrak bubuk adas menggunakan pelarut etanol dengan metode TBA.

Penentuan Total Fenol Ekstrak Adas (Metode Julkunen-Tiito, 1985)

Analisa menggunakan pereaksi *folin-ciocalteu phenol*. Sampel 50-100 μl dilarutkan dalam etanol

sampai dicapai volume 2 ml di dalam labu ukur 10 ml. Pereaksi *folin-ciocalteu phenol* sebanyak 1 ml ditambahkan, kemudian labu ukur digoyang-goyang perlahan. Natrium karbonat 20% sebanyak 5 ml ditambahkan dan digoyang. Setelah 20 menit larutan diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 750 nm. Penentuan kadar total fenol digunakan (+)-asam gallat sebagai standar.

Penentuan Kemampuan Menangkap Radikal Bebas DPPH Komponen Senyawa Fenolik dari Ekstrak Adas (Yun, 2001)

Larutan etanol yang mengandung ekstrak adas dicampur dengan pelarut etanol dan 2 ml larutan etanol dari radikal DPPH (1 mM DPPH dalam 0.250 ml) ditambahkan, sehingga diperoleh larutan 6 ml dengan konsentrasi fenol masing-masing sebanyak 0, 50, 100, 125, 150, 175, 200, 225, 250 ppm. Campuran divortex selama 15 detik kemudian dibiarkan diudara terbuka selama 30 menit. Absorbansi larutan diukur dengan metode spektrofotometri pada panjang gelombang 517 nm dengan etanol sebagai blanko. Selanjutnya dilakukan uji komparatif kapasitas penangkapan radikal bebas DPPH antara ekstrak adas dan BHT.

Pengujian aktivitas antioksidan dengan metode Kikuzaki dan Nakatami (1993) yang dimodifikasi

Larutan ekstrak adas dalam etanol 95% dengan konsentrasi 200 ppm (0.02%) kemudian diambil 4 ml dan dimasukkan dalam vial tertutup. Asam lenolet 2.31% dalam etanol 95% diambil 4.1 ml dan dicampur dengan ekstrak bubuk adas dan asam linoleat dalam vial. Larutan buffer fosfat 0.05 M dengan pH 7 diambil sebanyak 8 ml dan aquades sebanyak 3.9 ml dicampur dengan larutan dalam vial. Vial berisi campuran larutan tersebut diinkubasi dalam oven pada suhu 40°C dalam keadaan gelap selama 10 hari. Setiap hari dilakukan pengujian aktivitas antioksidan. Sebagai kontrol adalah perlakuan tanpa penambahan ekstrak bubuk adas.

Pengujian aktivitas antioksidan metode thiobarbituric acid (TBA) dengan cara diambil 1 ml larutan sampel yang telah diinkubasi ditambahkan 2 ml asam trikloroasetat 20% dan 2 ml larutan TBA 0.02 M. Campuran dididihkan dalam penangas air selama 10 menit, kemudian didinginkan dan disentrifugasi pada 3000 rpm selama 20 menit. Supernatan diukur pada panjang gelombang 532 nm.

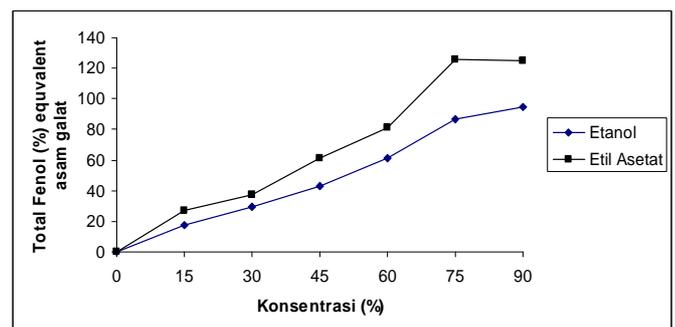
HASIL DAN PEMBAHASAN

Total Fenol Ekstrak Bubuk Adas

Kadar total fenol ekstrak bubuk adas ditentukan dengan metode *folin Ciocalteu Phenol* yang didasarkan pada kemampuan senyawa fenolik bereaksi dengan pengoksidasi. Senyawa kompleks molibdenium-tungsten yang dihasilkan berwarna biru. Reagen ini tidak bersifat spesifik untuk senyawa fenol dan warna yang di-

hasilkan sangat tergantung pada gugus hidroksi dan kedudukan gugus tersebut dalam struktur molekul. Warna biru yang dihasilkan tidak hanya ditentukan oleh jumlah senyawa fenolik yang ada, tetapi juga oleh variasi struktur dan agen-agen pereduksi non fenolik (Julkunen-Tiito, 1985). Ekstraksi senyawa fenol yang terkandung dalam simplesia jahe menggunakan pelarut etil asetat dan etanol bertujuan untuk memperoleh senyawa fenolik yang larut dalam pelarut non polar. Hasil ekstraksi yang diperoleh merupakan hasil relatif senyawa fenol.

Gambar 1 menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi pelarut (etil asetat dan etanol) konsentrasi total fenol cenderung meningkat. Hal ini kemungkinan disebabkan kelarutan fenol yang terkandung di biji adas cenderung larut dalam tingkat kepolaran yang rendah. Jenis pelarut yang mempunyai tingkat kepolaran yang berbeda yaitu etil asetat lebih rendah dibandingkan etanol, prosentase total fenol yang diperoleh menggunakan etil asetat lebih besar dibandingkan dengan pelarut etanol pada semua variasi konsentrasi pelarut.



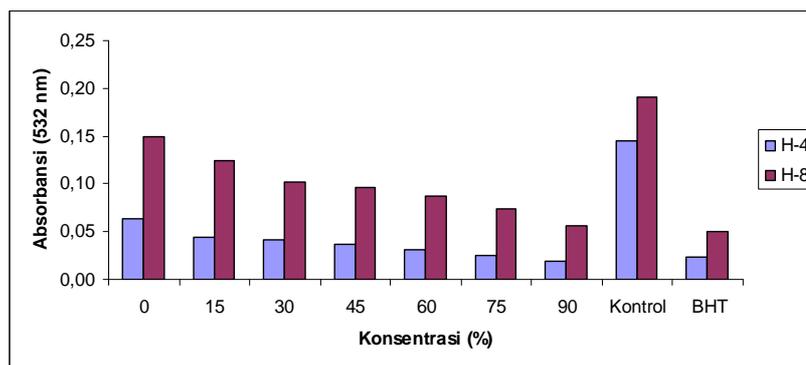
Gambar 1. Total fenol ekstrak bubuk adas menggunakan pelarut etanol dan etil asetat.

Antioksidan Ekstrak Bubuk Adas dengan metode TBA

Pengujian antioksidan dengan metode TBA adalah berdasarkan terbentuknya asam melanol dehid (MDA). Reagen TBA akan bereaksi dengan MDA dan membentuk senyawa kompleks dengan warna merah muda yang dapat ditera pada $\lambda = 532$ nm.

Gambar 2 dan Gambar 3 menunjukkan aktivitas antioksidan ekstrak bubuk adas dengan menggunakan pengujian TBA pada pelarut etanol dan etil asetat. Konsentrasi pelarut meningkat, peneraan absorbansi cenderung menurun pada pengujian hari ke-4 dan hari ke-8. Penurunan absorbansi ini menunjukkan pembentukan melanodehid cenderung menurun dan semakin tinggi konsentrasi pelarut, zat aktif senyawa antioksidan yang terekstrak semakin besar. Hal ini diperkuat pada konsentrasi fenol semakin meningkat dengan meningkatnya konsentrasi pelarut.

Penggunaan jenis pelarut etanol dan etil asetat menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan ekstrak biji adas dengan menggunakan etil asetat lebih baik diban-

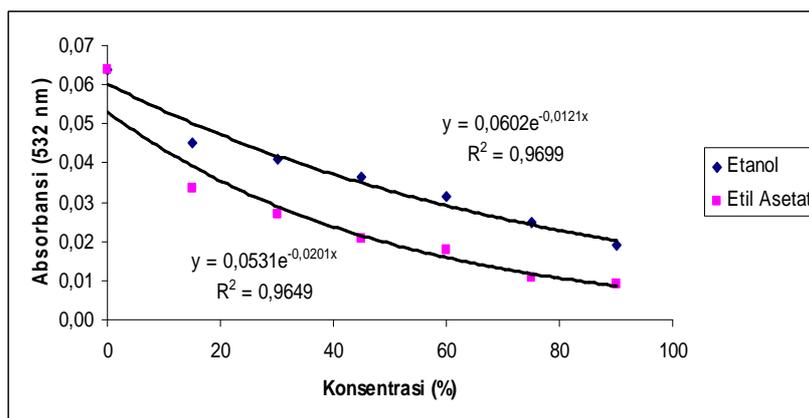


Gambar 2. Antioksidan ekstrak bubuk adas menggunakan pelarut etanol dengan metode TBA.

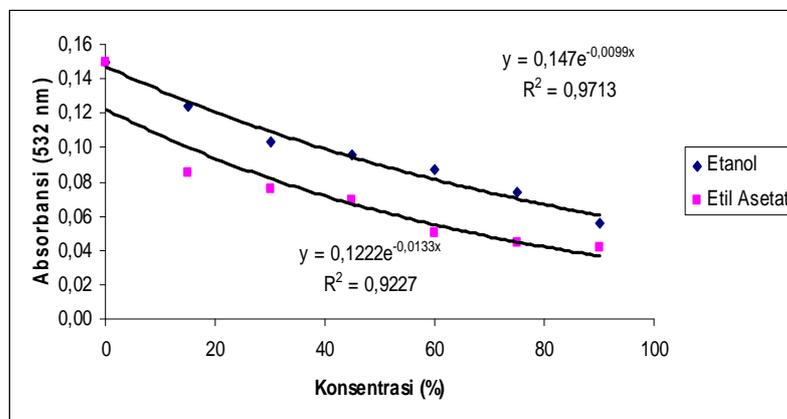
dingkan etanol pada pengujian TBA pada semua variasi konsentrasi (Gambar 4 dan Gambar 5). Hal ini kemungkinan disebabkan senyawa aktif antioksidan biji adas larut dalam kepolaran rendah, sehingga pelarut etil asetat lebih banyak mengekstrak senyawa aktif dibandingkan etanol. Semakin tinggi senyawa aktif antioksidan yang terekstrak menyebabkan aktivitas antioksidan semakin tinggi.

Persamaan regresi pada konsentrasi pelarut etanol dan etil asetat menunjukkan persamaan ekponensial hari ke-4 dan ke-8. Determinasi etil asetat pada hari ke-4 adalah 96,49% dan hari ke-8 adalah 92,27%. Hal ini menunjukkan bahwa 96,49% dan 92,27% dipengaruhi oleh faktor konsentrasi larutan etil asetat, dan sisanya adanya faktor-faktor luar yaitu 3,51% dan 7,73% masing-masing pada hari ke-4 dan ke-8. Determinasi etanol pada hari ke-4 adalah 96,99% dan hari ke-8 adalah 97,13%. Hal ini menunjukkan bahwa 96,49% dan 92,27% dipengaruhi oleh faktor konsentrasi larutan etanol, dan sisanya adanya faktor-faktor luar yaitu 3,01% dan 3,87% masing-masing pada hari ke-4 dan ke-8.

Persamaan regresi ekponensial etil asetat pada hari ke-4 dan ke-8 mempunyai pangkat ekponensial lebih rendah dibandingkan dengan persamaan regresi ekponensial etanol. Hal ini mengindikasikan bahwa aktivitas antioksidan menggunakan pelarut etil asetat lebih tinggi dibandingkan pelarut etanol.



Gambar 4. Antioksidan ekstrak bubuk adas pada hari ke-4 (uji TBA).



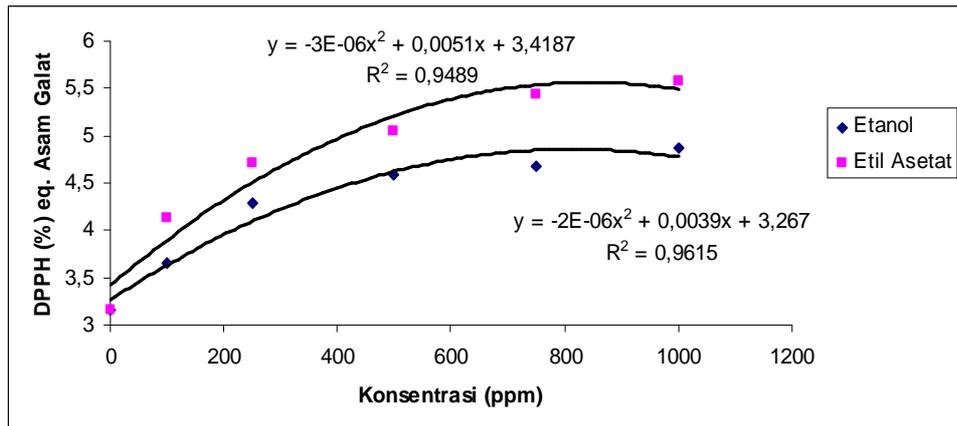
Gambar 5. Antioksidan ekstrak bubuk adas pada hari ke-8 (uji TBA).

Antiradikal Ekstrak Bubuk Adas pada Beberapa Konsentrasi

Penentuan kemampuan penangkap radikal bebas oleh senyawa femol didasarkan pada persentase penghambatan antioksidan terhadap kontrol yang berisi 2 ml radikal DPPH 1 mM dalam etanol secara spektrofotometri pada panjang gelombang 517 nm. Menurut Reische *et al.* (2002), aktivitas penangkap radikal bebas dapat terjadi karena disebabkan oleh senyawa fenol mempunyai kemampuan mendonorkan elektron atau hidrogen sehingga menghasilkan radi

kal stabil yang berenergi rendah, struktur radikal baru ini menjadi stabil karena terjadinya resonansi pada cincin bensennya (radikal ariloksil).

Hasil aktivitas antioksidan dengan pengujian TBA menunjukkan bahwa penggunaan pelarut etanol dan etil asetat pada konsentrasi masing-masing 90% memiliki aktivitas antioksidan yang tertinggi. Pengujian selanjutnya digunakan konsentrasi 90% untuk pengujian antiradikal menggunakan DPPH pada beberapa konsentrasi.



Gambar 6. Antiradikal ekstrak bubuk adas pada variasi konsentrasi.

Gambar 6 menunjukkan aktivitas antiradikal senyawa aktif antioksidan yang menggunakan pelarut etil asetat lebih baik dibandingkan etanol pada semua konsentrasi. Hal ini menunjukkan bahwa aktivitas penangkap radikal bebas disebabkan senyawa aktif pada ekstrak bubuk biji adas menggunakan pelarut etil asetat mempunyai kemampuan mendonorkan elektron atau hidrogen lebih banyak dibandingkan senyawa aktif yang terekstrak dengan pelarut etanol.

Persamaan regresi etanol dan etil asetat berbentuk persamaan kuadrat dengan determinasi masing-masing adalah 94.89% dan 96.15%. Optimum penggunaan ekstrak bubuk adas dengan pelarut etanol dan pelarut etil asetat untuk penangkap radikal bebas adalah 975 ppm dan 850 ppm.

KESIMPULAN

Senyawa aktif antioksidan yang diekstrak menggunakan etil asetat lebih tinggi dibandingkan menggunakan pelarut etanol. Konsentrasi optimum ekstrak bubuk adas dengan pelarut etanol dan pelarut etil asetat untuk penangkap radikal bebas adalah 975 ppm dan 850 ppm.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 2000. Adas. http://www.asiamaya.com/jamu/isi/adas_feoculumvulgare.htm.
- Auroma, O.I., J.P.E. Spencer, D. Warren, P. Jenner, J. Butler dan B. Halliwell. 1997. Characterization of food antioxidants, illustrated using commercial garlic and ginger preparation. *J. Food Chem.* 60 (2): 149-156.
- Dewi, Y.S., Tranggono, S. Raharjo dan P. Hastuti. 2005. Aktivitas antioksidan ekstrak *Aloe vera* sebagai penangkap radikal. *Agritech* 25(1): 124-130.
- Hall, C. 2001. Sources of Natural Antioxidant: Oil Seed, Nuts, Legumes, Animal Product and Microbial Sources in J. Pokorny, N. Yanishlieva dan M. Gordon (ed.). *Antioxidant. Didalam Food Practical Application.* CRC Press, New York.
- Julkunen-Tiitto, R. 1985. Phenolic constituents in the leaves of Northern Willows: Methods for the analysis of certain Phenolics. *J. Agric. Food. Chem.* 33: 213-217.
- Ketaren, S. 1985. *Pengantar Teknologi Minyak Atsiri.* Balai Pustaka, Jakarta.
- Kikuzaki, H. dan N. Nakatami. 1993. Antioxidant effects of some ginger constituents. *J. Food Sci.* 58 (6): 1407-1410.
- Rohman, A. dan S. Riyanto. 2005. Aktivitas antioksidan ekstrak buah mengkudu (*Morinda citrifolia* L.). *Agritech.* 25(1): 131-136.

- Safitriani, R.R. 2005. Potensi Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) Sebagai Antioksidan. [Tesis]. Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Santosa, U., Sukardi dan S. Anggrahani. 2000. Pengaruh Pemanasan Terhadap Daya Tangkap Radikal Ekstrak Beberapa Macam Rimpang. Seminar Nasional Industri Pangan.
- Suryanto, E., S. Raharjo, H. Sastrohamidjojo dan Tranggono. 2005. Aktivitas antioksidan dan stabilitas ekstrak andaliman (*zanthoxylum acanthopodium* DC). Agritech 25(2): 137-142.
- Widyawati, P.S. 2005. Potensi Daun Kemangi (*Ocimum basilicum* Linn) sebagai penangkap radikal bebas DPPH (2,2-Diphenil-1-phycrylhidrazil radical). Agritech. 25(1): 137-142.
- Yanagimoto, K., H. Ochi, K.G. Lee dan T. Shibamoto. 2003. Antioxidative activity of extraxts from green tea, Oolong tea, and black tea. J. Agric. Food Chem. 51: 7396-7401.
- Yun, L. 2001. Free radical scavenging properties of conjugated linoic acids. J. Agric. Food Chem. 49: 3452-3456.