

AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN FLAVONOID EKSTRAK BIJI KURMA

Siti Warnasih^{1*}, Diana Widiastuti¹, Uswatun Hasanah¹,
Laksmi Ambarsari², Purwantiningsih Sugita³

¹Program Studi Kimia FMIPA Universitas Pakuan, Bogor

²Departemen Biokimia FMIPA Institut Pertanian Bogor

³Departemen Kimia FMIPA Institut Pertanian Bogor

*e-mail: siti.warnasih@unpak.ac.id

diterima: 20 Januari 2019; direvisi: 13 Februari 2019; disetujui: 02 Maret 2019

ABSTRAK

Biji kurma merupakan limbah dari pengolahan buah kurma yang belum dimanfaatkan secara optimal. Biji kurma mengandung senyawa flavonoid yang diketahui dapat berperan sebagai antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan aktivitas antioksidan dan flavonoid ekstrak metanol yang dilakukan secara soxhletasi dan hasil fraksinasinya. Biji kurma dibuat menjadi simplisia, diekstrak dengan soxhlet dengan pelarut metanol, kemudian ekstrak metanol difraksinasi bertingkat secara partisi cair-cair dengan pelarut n-heksan, etil asetat, dan n-butanol. Setiap fraksi dan ekstrak ditentukan aktivitas antioksidannya dengan metode DPPH dan flavonoidnya ditentukan secara spektrofotometri. Fraksi etil asetat mempunyai aktivitas antioksidan terkuat dengan nilai IC_{50} paling rendah yaitu sebesar $5,74 \pm 0,05 \mu\text{g/mL}$, diikuti ekstrak metanol sebesar $9,55 \pm 0,53 \mu\text{g/mL}$, fraksi n-butanol $19,73 \pm 0,58 \mu\text{g/mL}$, dan fraksi n-heksan sebesar $289,59 \pm 10,52 \mu\text{g/mL}$, sedangkan nilai IC_{50} untuk vitamin C sebagai kontrol positif adalah sebesar $4,29 \pm 0,74 \mu\text{g/mL}$. Flavonoid tertinggi dihasilkan dari fraksi etil asetat yaitu sebesar $1484,33 \pm 161,47 \text{ mg Quercetin Equivalent (QE)/100 g}$, diikuti secara berturut-turut oleh ekstrak metanol sebesar $282,84 \pm 13,72 \text{ mg QE/100 g}$, fraksi n-butanol sebesar $199,25 \pm 7,39 \text{ mg QE/100 g}$, dan fraksi n-heksan sebesar $64,92 \pm 3,17 \text{ mg QE/100 g}$.

Kata Kunci: antioksidan, biji kurma, DPPH, flavonoid

ANTIOXIDANT ACTIVITIES AND FLAVONOID EXTRACT OF CURMA SEEDS

ABSTRACT

Date seeds are waste from palm fruit processing that has not been utilized optimally. Date seeds contain flavonoids which are known to act as antioxidants. The aim of this study was to determine the antioxidant activity and flavonoid of methanol extract which was carried out by soxhletation and its fractionation results. Date seeds are made into simplicia, soxhlet extraction with methanol, then the methanol extract is fractionated in stages by liquid-liquid partition with n-hexane, ethyl acetate, and n-butanol. Each fraction and extract was determined by its antioxidant activity with the DPPH method and its flavonoid was determined by spectrophotometry. Ethyl acetate fraction has the strongest antioxidant activity with the lowest IC_{50} value, that is equal to $5.74 \pm 0.05 \mu\text{g/mL}$, followed by methanol extract of $9.55 \pm 0.53 \mu\text{g/mL}$, n-butanol fraction $19.73 \pm 0.58 \mu\text{g/mL}$, and n-hexane fraction of $289.59 \pm 10.52 \mu\text{g/mL}$, while the IC_{50} value for vitamin C as a positive control was $4.29 \pm 0.74 \mu\text{g/mL}$. The highest flavonoids were produced from ethyl acetate fractions which amounted to $1484.33 \pm 161.47 \text{ mg Quercetin Equivalent (QE) / 100 g}$, followed respectively by methanol extract of $282.84 \pm 13.72 \text{ mg QE/100 g}$.

Key words: antioxidants, date seeds, DPPH, flavonoids

PENDAHULUAN

Kurma (*Phoenix dactylifera*) merupakan sumber makanan yang penting di negara-negara Timur Tengah dan Afrika Utara. Kurma mengandung karbohidrat yang tinggi sekitar 77,34-84,45%, tergantung varietas (Al-Farsi *et al.*, 2007), dan beberapa mineral penting seperti besi, kalium, kalsium, magnesium, mangan, natrium, tembaga, dan seng (Chaira *et al.*, 2007). Buah kurma kaya dengan zat antioksidan yang dapat membantu dalam menurunkan resiko kanker dan meningkatkan sistem kekebalan tubuh (Yasin *et al.*, 2015).

Biji kurma mengandung antioksidan yang dapat menurunkan kadar radikal bebas. Kandungan antioksidan biji kurma lebih tinggi dibanding daging buahnya (Ardekani *et al.*, 2010). Adapun kandungan total fenoliknya berjumlah 3102-4430 *Gallic Acid Equivalent*/100g sedangkan dalam daging buah hanya berjumlah 186-246 *Gallic Acid Equivalent* /100g. Dalam penelitian Al-Farsi dan Lee (2008), kandungan total fenol dalam biji kurma ditemukan sebesar 48,64 mg/100g. Asam fenolat yang terdeteksi berupa asam galat, asam p-hidroksibenzoat, asam ferulat, asam m-koumarat, dan asam o-koumarat (Afiq *et al.*, 2013).

Pada penelitian sebelumnya yang telah dilakukan Warnasih *et al.* (2019), fraksi etil asetat dari hasil ekstraksi dengan metanol metode maserasi didapatkan nilai IC₅₀ sebesar 3,72±0,44µg/mL dengan kategori antioksidan sangat aktif. Oleh karena itu, pada penelitian ini metode yang dipakai pada proses ekstraksi yaitu metode Soxhletasi atau ekstraksi dengan menggunakan panas.

Tujuan penelitian ini untuk menentukan aktivitas antioksidan dan flavonoid ekstrak metanol yang dilakukan secara soxhletasi dan hasil fraksinasi.

BAHAN DAN METODE

Bahan yang digunakan

Biji kurma varietas Siwa (Mesir) diambil dari pabrik sari kurma, CV. Amal

Mulia Sejahtera, Bogor, Jawa Barat, Indonesia.

Preparasi sampel

Biji kurma dibersihkan dan dicuci, dikeringkan pada oven 50 °C semalaman, dihancurkan menjadi serbuk berukuran 40 mesh dengan menggunakan mesin mill. Dimasukan ke dalam plastik polietilen, dan disimpan pada suhu 4 °C sampai dianalisis.

Ekstraksi-Fraksinasi

Serbuk biji kurma sebanyak 10 gram diekstrak dengan Soxhlet menggunakan metanol (1:10) selama ± 6 jam. Filtrat disaring dan dipekatkan dengan *vaccum evaporator* pada suhu 40 °C. Ekstrak kasar metanol kemudian dilakukan fraksinasi bertingkat metode partisi cair-cair, sebanyak 5 gram ekstrak kasar metanol dilarutkan dengan 50 mL air, dan ditambahkan 50 mL n-heksan, lalu diekstrak dengan corong pemisah sehingga terbentuk dua fraksi, fraksi bawah sebagai fraksi air dan fraksi atas sebagai fraksi n-heksan, fraksi n-heksan dipisahkan dan ditampung pada vial I. Pada fraksi air ditambahkan dengan 50 mL etil asetat, lalu diekstrak dengan corong pemisah sehingga terbentuk dua fraksi, fraksi bawah sebagai fraksi air dan fraksi atas sebagai fraksi etil asetat, fraksi etil asetat dipisahkan dan ditampung pada vial II. Pada fraksi air ditambahkan dengan 50 mL n-butanol, lalu diekstrak dengan corong pemisah sehingga terbentuk dua fraksi, fraksi bawah sebagai fraksi air dan fraksi atas sebagai fraksi n-butanol, fraksi n-butanol dipisahkan dan ditampung pada vial III, sedangkan fraksi air ditampung pada vial IV. Semua fraksi dipekatkan dengan *vaccum evaporator* pada suhu 40 °C.

Penentuan aktivitas antioksidan

Penentuan aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) secara spektrofotometri UV-Vis. Prinsip metode ini adalah melakukan pengukuran penangkapan radikal DPPH oleh suatu senyawa yang mempunyai aktivitas antioksidan dengan menggunakan

spektrofotometri UV-Vis sehingga akan diketahui nilai aktivitas peredaman radikal bebas yang dinyatakan dengan nilai IC_{50} (*Inhibitory Concentration*). Semakin rendah nilai IC_{50} menunjukkan aktivitas antioksidan semakin baik. Digunakan standar vitamin C sebagai kontrol positif.

Penentuan flavonoid

Sebanyak 0,5 mL ekstrak masing-masing dimasukkan kedalam tabung reaksi. Ditambahkan dengan 0,1 mL aluminium klorida 10% lalu ditambahkan 1,5 mL ethanol, dan 0,1 mL CH_3COOK 1M 5% lalu 2,8 mL akuades, kocok hingga homogen. Diinkubasi pada suhu ruang pada waktu inkubasi optimum. Diukur serapan pada waktu optimum dan panjang gelombang maksimum dengan standar kuersetin menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Dilakukan 2 kali pengulangan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Biji kurma yang digunakan dalam penelitian dibuat simplisia kering. Kadar air yang didapatkan yaitu sebesar $9,10 \pm 0,47\%$ (Warnasih *et al.*, 2019). Berdasarkan hasil ekstraksi dengan metode Soxhlet yang dilakukan selama 3 x ulangan dari 30 gram simplisia kering didapatkan sebanyak 10 gram ekstrak kental metanol (33,33%). Hasil ini lebih banyak dibandingkan penelitian sebelumnya yang menggunakan metode maserasi yaitu hanya sekitar 15,7%. Hal ini dikarenakan pada ekstraksi dengan metode Soxhlet tidak ada proses penyaringan yang mengakibatkan banyaknya kehilangan sampel, selain itu juga metode Soxhlet relatif lebih cepat karena hanya dilakukan selama 6 jam, sedangkan pada metode maserasi diperlukan waktu lebih lama yaitu sampai 3x24 jam. Selanjutnya ekstrak kental metanol difraksinasi dengan metode partisi cair-cair menggunakan pelarut n-heksan, etil asetat, n-butanol, dan air, sehingga dihasilkan 5 sampel untuk analisis selanjutnya yaitu ekstrak metanol, fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, fraksi n-butanol, dan fraksi air. Tetapi pada perjalanannya fraksi air tidak

dilakukan pengujian dikarenakan adanya jamur.

Aktivitas Antioksidan

Aktivitas antioksidan ekstrak kasar metanol dan fraksi hasil partisinya disajikan pada Tabel 1. Parameter yang digunakan untuk menentukan besarnya kemampuan senyawa sebagai antioksidan yaitu IC_{50} . Nilai IC_{50} merupakan konsentrasi senyawa antioksidan yang dapat menurunkan radikal DPPH sebesar 50%. Semakin kecil nilai IC_{50} maka semakin aktif ekstrak sebagai senyawa antioksidan. Nilai IC_{50} untuk ekstrak kasar metanol, fraksi n-heksan, etil asetat, dan n-butanol berturut-turut adalah $9,55 \pm 0,53 \mu\text{g/mL}$, $289,59 \pm 10,52 \mu\text{g/mL}$, $5,74 \pm 0,05 \mu\text{g/mL}$, dan $19,73 \pm 0,58 \mu\text{g/mL}$, sedangkan nilai IC_{50} untuk vitamin C sebagai kontrol positif adalah sebesar $4,29 \pm 0,74 \mu\text{g/mL}$. Berdasarkan hasil tersebut maka ekstrak kasar metanol, fraksi etil asetat, dan n-butanol dikategorikan sangat kuat sama seperti vitamin C, dan fraksi n-heksan dikategorikan sangat lemah. Hal ini sesuai dengan penggolongan yang dikemukakan oleh (Molyneux, 2004) yang disajikan ada Tabel 2. Hasil ini juga sesuai dengan hasil pengolahan data dengan metode analisis sidik ragam (ANOVA) menggunakan SPSS bahwa ekstrak metanol, fraksi etil asetat, fraksi n-butanol, dan vitamin C tidak berbeda nyata ($p > 0,05$), sedangkan fraksi n-heksan terdapat perbedaan yang nyata ($p < 0,05$), sehingga dengan uji lanjut Duncan didapatkan bahwa nilai IC_{50} ekstrak metanol, fraksi etil asetat, fraksi n-butanol, dan vitamin C berada dalam satu kelompok yaitu golongan sangat kuat, sedangkan fraksi n-heksan termasuk golongan antioksidan sangat lemah. Hal ini juga sejalan dengan penelitian yang telah dilakukan sebelumnya, yang menyatakan bahwa ekstrak metanol, fraksi etil asetat, fraksi n-butanol menghasilkan IC_{50} di bawah $50 \mu\text{g/mL}$ atau termasuk golongan sangat kuat, sedangkan fraksi n-heksan menghasilkan IC_{50} di atas $200 \mu\text{g/mL}$ atau termasuk golongan antioksidan sangat

lemah (Warnasih *et al.*, 2019). Berdasarkan hal tersebut maka metode ekstraksi biji kurma tidak berpengaruh terhadap aktivitas antioksidan ekstrak dan fraksi biji kurma, walaupun jika dibandingkan aktivitas antioksidan ekstrak biji kurma dengan metode Soxhletasi lebih tinggi daripada yang dihasilkan dari proses ekstraksi secara maserasi. Hal ini dapat disebabkan karena ekstraksi menggunakan Soxhletasi merupakan ekstraksi secara panas sehingga kemungkinan ada senyawa volatile yang bisa menguap.

Tabel 1. Aktivitas antioksidan ekstrak biji kurma

Sampel	IC ₅₀ (µg/mL)	
	Metode Soxhletasi	Metode maserasi (Warnasih <i>et al.</i> , 2019)
Ekstrak methanol	9,55 ^a ±0,53	5,02 ^a ±0,98
Fraksi n-heksan	289,59 ^c ±10,52	248,42 ^c ±12,68
Fraksi etil asetat	5,74 ^a ±0,05	3,72 ^a ±0,44
Fraksi n-butanol	19,73 ^b ±0,58	6,60 ^a ±0,07
Vitamin C	4,29 ^a ±0,74	4,25 ^a ±0,87

*Nilai yang diikuti huruf yang berbeda menunjukkan perlakuan berbeda nyata pada uji Duncan ($\alpha = 0,05$)

Tabel 2. Penggolongan antioksidan (Molyneux, 2004)

Konsentrasi IC ₅₀	Penggolongan
IC ₅₀ ≤ 50 µg/mL	Sangat kuat
50 µg/mL < IC ₅₀ ≤ 100 µg/mL	Kuat
100 µg/mL < IC ₅₀ ≤ 150 µg/mL	Sedang
150 µg/mL < IC ₅₀ ≤ 200 µg/mL	Lemah
IC ₅₀ > 200 µg/mL	Sangat lemah

Flavonoid

Penentuan flavonoid dalam ekstrak biji kurma menggunakan pereaksi Alumunium (III) Klorida 10% dengan kuersetin sebagai standar. Hasil penentuan flavonoid disajikan pada Tabel 3. Berdasarkan Tabel 3 fraksi etil asetat mempunyai kandungan flavonoid yang paling tinggi sebesar 1484,33±161,47 mg QE/100 gram fraksi dibandingkan dengan

ekstrak metanol dan fraksi-fraksi yang lainnya. Pada penelitian sebelumnya total flavonoid pada ekstrak metanol biji kurma diperoleh berbeda-beda tergantung varietasnya, 1211±81 mg QE/g varietas Deglet Nour, 1210±63 mg QE/g pada varietas Ruchdi, 1270±112 mg QE/g pada varietas Ftimi, dan 1450±153 mg QE/g pada varietas Kentichi (Allouche *et al.*, 2016).

Tabel 3. Flavonoid ekstrak biji kurma

Sampel	Flavonoid (mg QE/100 g)
Ekstrak metanol	282,84 ^a ±13,72
Fraksi n-heksan	64,92 ^a ±3,17
Fraksi etil asetat	1484,33 ^b ±161,47
Fraksi n-butanol	199,25 ^a ±7,39

*Nilai yang diikuti huruf yang berbeda menunjukkan perlakuan berbeda nyata pada uji Duncan ($\alpha = 0,05$)

Berdasarkan hasil pengolahan data dengan metode analisis sidik ragam (ANOVA) menggunakan SPSS bahwa ekstrak metanol, fraksi n-butanol, dan n-heksan terdapat perbedaan yang nyata ($p < 0,05$), sehingga dengan uji lanjut Duncan didapatkan bahwa flavonoid pada fraksi etil asetat berada pada kelompok yang berbeda, sedangkan flavonoid ekstrak metanol, fraksi n-butanol, dan n-heksan berada pada satu kelompok yang sama.

KESIMPULAN

Pada hasil penelitian ini, fraksi etil asetat mempunyai aktivitas antioksidan dan kandungan flavonoid tertinggi dibandingkan ekstrak metanol, fraksi n-butanol, dan n-heksan. Metode ekstraksi Soxhletasi yang dipakai pada penelitian ini tidak mempengaruhi hasil aktivitas antioksidan dari ekstrak yang dihasilkan. Penelitian lebih lanjut masih perlu dilakukan untuk menentukan adanya korelasi antara senyawa flavonoid, total fenol, dengan aktivitas antioksidan dari biji kurma.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Kementerian Riset dan Teknologi Pendidikan Tinggi

Republik Indonesia atas pembiayaan penelitian ini melalui hibah Penelitian Kerjasama Antar Perguruan Tinggi (PKPT) Tahun 2018.

DAFTAR PUSTAKA

- Afiq, Abdul, M.J., Abdul Rahman, R., Che Man, Y.B., Al Kahtani, H.A. & Mansor, T.S.T. (2013). Date seed and date seed oil. *International Food Research Journal* 20(5): 2036-2037.
- Al-Farsi, M. A., & Lee, C. Y. (2008). Optimization of phenolics and dietary fibre extraction from date seeds. *Food Chemistry*, 108(3), 977–985.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.12.009>
- Al-Farsi, M., Alasalvar, C., Al-Abid, M., Al-Shoaily, K., Al-Amry, M., & Al-Rawahy, F. (2007). Compositional and functional characteristics of dates, syrups, and their by-products. *Food Chemistry*, 104(3), 943–947.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.12.051>
- Allouche, F.M., Touati, S., Mnafigui, K., Gharsallah, N., El Feki, A., Allouche, N. (2016). Phytochemical profile, antioxidant, antibacterial, antidiabetic and anti-obesity activities of fruits and pits from date palm (*Phoenix dactylifera* L.) grown in south of Tunisia. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 5(3): 15-22.
- Ardekani, M. R. S., Khanavi, M., Hajimahmoodi, M., Jahangiri, M., & Hadjiakhoondi, A. (2010). Comparison of antioxidant activity and total phenol contents of some date seed varieties from Iran. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 9(2), 141–146.
- Chaira, N., Ferchichi, A., Mrabet, A., & Sghairoun, M. (2007). Chemical composition of the flesh and the pit of date palm fruit and radical scavenging activity of their extracts. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 10(13), 2202–2207.
<https://doi.org/10.3923/pjbs.2007.2202.2207>
- Molyneux, P. (2004). The Use of the Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 26(December 2003), 211–219.
<https://doi.org/10.1287/isre.6.2.144>.
- Warnasih, S., Widiastuti, D., Hasanah, U., Ambarsari, L., & Sugita, P. (2019). Phytochemical screening and antioxidant activity of date (*Phoenix dactylifera*) seed extracts. *International Journal of Engineering & Technology (in review)*.
- Yasin, B. R., El-Fawal, H. A. N., & Mousa, S. A. (2015). Date (*Phoenix dactylifera*) polyphenolics and other bioactive compounds: A traditional islamic remedy's potential in prevention of cell damage, cancer therapeutics and beyond. *International Journal of Molecular Sciences*, 16(12), 30075–30090.
<https://doi.org/10.3390/ijms161226210>