

Fraksinasi dan Identifikasi Senyawa Antioksidan pada Ekstrak Etanol buah Goji berry (*Lycium barbarum* Linn.) secara Kromatografi Kolom

Diga Albrian^(a), Sumi Wijaya^{(a)*}, Henry Kurnia Setiawan^(a)

^(a)Faculty of Pharmacy, Widya Mandala Catholic University Surabaya, Indonesia

Buah Goji berry (*Lycium barbarum* L). Memiliki kandungan senyawa kimia yang dimiliki antara lain polisakarida, zeaxanthin dan beta-carotene. Aktivitas dari senyawa kimia tersebut masih tergolong keluarga dari senyawa antioksidan, yang digunakan sebagai terapi penyembuhan terhadap penyakit akibat dari adanya radikal bebas seperti penyakit *atherosclerosis*, *cancer*, *liver cirrhosis*, hipertensi dan diabetes. Pada penelitian ini dilakukan fraksinasi dan identifikasi terhadap ekstrak etanol buah Goji berry untuk mendapatkan senyawa atau golongan yang mempunyai daya antioksidan pada ekstrak etanol buah Goji berry dengan metode kolom kromatografi dan metode DPPH. Senyawa yang terisolasi akan diidentifikasi dengan menggunakan metode skrining fitokimia, KLT, Spektrofotometer UV-Vis dan spektrofotometer Inframerah. Dari hasil penelitian didapatkan bahwa buah Goji berry memiliki senyawa metabolit sekunder yang berfungsi sebagai antioksidan yaitu senyawa flavonoid (flavon atau flavonol). Aktivitas antioksidan hasil fraksinasi memberikan aktivitas antioksidan yang tinggi dibandingkan dengan ekstrak etanol buah Goji berry. Golongan metabolit sekunder dalam fraksi etanol buah goji berry yang dapat berfungsi sebagai senyawa antioksidan adalah flavonoid dan fraksi etanol dari buah goji berry memiliki aktivitas antioksidan yang lebih besar dibandingkan dengan ekstrak etanolnya.

Kata kunci: Antioksidan, Goji berry, DPPH dan kolom kromatografi.

Fractionation and Identification of Antioxidant Compounds in Ethanol Extracts of Goji berry fruit (*Lycium barbarum* Linn.) in Column Chromatography

Goji berry fruit (Lycium barbarum), familia Solanaceae, is a red berry fruit. The chemical compounds contained in this fruit are polysaccharides, zeaxanthin and beta-carotene. Activity of the chemical compounds is still considered as a family of antioxidant compounds, which are used as a medicine to cure the diseases caused by the presence of free radicals such as atherosclerosis, cancer, liver cirrhosis, hypertension and diabetes. The research will be carried on fractionation and identification of the ethanol extract of Goji berry fruit to obtain compounds that have antioxidant power using chromatographic column method and DPPH method. The isolated compounds will be identified using methods phytochemicals screening, TLC, UV-Vis spectrophotometer and infrared spectrophotometer. The result showed that secondary metabolites of Goji berry fruit which are potential as antioxidant compound were flavonoid (flavonols or flavones). The isolated compound had higher antioxidant activity compare to the ethanol extract of Goji berry fruit. Flavonoids are the major compounds that have antioxidant capacity. Whereas, the ethanol fraction of Goji berry fruits has the best antioxidant activity than the ethanol extract.

Keywords: Antioxidant, Goji berry, DPPH and chromatographic column.

*Corresponding author: Faculty of Pharmacy, Widya Mandala Catholic University Surabaya, Jl. Dinoyo 42-44, Surabaya, Indonesia, Phone/fax number : (+62-31)5678478/(+62-31)5610818, E-mail : Sumiwijaya@yahoo.com

PENDAHULUAN

Radikal bebas adalah sekelompok bahan kimia baik berupa atom maupun molekul yang memiliki elektron tidak berpasangan. Atom atau molekul dengan elektron bebas ini dapat berupa *oxidative stress*, di mana *oxidative stress* merupakan hasil dari ketidakseimbangan dari dua kekuatan yang berlawanan dan antagonis, yaitu *Reactive Oxygen Species* (ROS) dan Antioksidan (Proctor & Reynolds, 1984). Akibat dari adanya ROS ini dapat mengganggu produksi DNA, dimana lapisan lipid yang ada pada dinding sel dapat mempengaruhi pembuluh darah dan produksi prostaglandin (Hazra & Sarkar, 2010). Dalam hal ini, antioksidan berperan penting dalam pembongkaran radikal bebas tersebut. Berdasarkan sumbernya, terdapat dua macam antioksidan yaitu antioksidan alami dan antioksidan buatan (sintetik). Ada beberapa antioksidan sintetik yang dapat menyebabkan efek karsinogenesis antara lain BHA (Butil Hidroksi Anisol), BHT (Butil Hidroksi Toluena) dan PG (Propil Galat) (Robards *et al.*, 2001). Oleh karena itu, penggunaan dari antioksidan alami semakin dicari dan mengalami peningkatan. Buah Goji berry (*Lycium barbarum*), familia Solanaceae merupakan buah berry yang berwarna merah. Kandungan senyawa kimia yang dimiliki oleh buah Goji berry ini antara lain polisakarida, zeaxanthin dan beta-carotene. Aktivitas dari senyawa kimia tersebut masih tergolong keluarga dari senyawa antioksidan, Pada uji secara *in-vitro* dengan menggunakan metode TEAC assay (*Trolox Equivalent Antioxidant Capacity*) dan ORAC assay (*Oxygen Radical Absorbance Capacity*), ekstrak hasil *decoction* dari *Lycium barbarum* dapat menghasilkan efek antioksidan yang tinggi (Luo *et al.*, 2004). Pada pengujian *in-vivo*, campuran ekstrak dari *Lycium barbarum* dengan *raspberry* yang diinjeksikan ke mencit memberikan efek aktivitas antioksidan yang cukup tinggi dengan menggunakan metode ORAC assay (Chao *et al.*, 2004). Pada penelitian ini akan dilakukan fraksinasi ekstrak etanol buah Goji berry dengan metode kromatografi kolom yang selanjutnya dilakukan pengujian daya antioksidan dengan menggunakan DPPH. Fraksi yang diperoleh, dibandingkan daya antioksidannya dengan ekstrak etanol buah Goji berry menggunakan metode DPPH.

METODE PENELITIAN

Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian adalah alat-alat gelas yang lazim digunakan di laboratorium Teknologi Bahan Alam, seperangkat alat kromatografi lapis tipis, dan seperangkat alat kromatografi kolom. Untuk identifikasi senyawa dengan metode spektroskopi digunakan spektrofotometer inframerah *Shimadzu Fourier Transform Infrared Spectrophotometer FTIR-8400S* (Shimadzu, Jepang), spektrofotometer UV-VIS *Shimadzu UV-1800 Spectrophotometer*.

Bahan

Buah Goji berry, Etanol 96%, DPPH (Sigma, Germany), KLT silika gel 60 F₂₅₄ (Merck KGaA, Germany), Silika Gel 60 70-230 mesh (0,063-0,200 mm) (Merck KGaA, Germany), metanol p.a (*pro analysis*), kuersetin (Sigma, Germany), kloroform, n- heksan, etil asetat (*pharmaceutical grade*).

Tahapan Penelitian

Penelitian dilakukan dari bulan Juli 2012 sampai januari 2013 di Fakultas Farmasi, Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya.

Cara Penyiapan Sampel Simplisia

Simplisia kering buah Goji berry didapatkan dari sebuah toko obat Cina yang berada di Jalan Pabean Surabaya, simplisia kering tersebut kemudian dihaluskan dengan menggunakan blender untuk mendapatkan hasil serbuk padatan buah Goji berry sebanyak 1 kg.

Ekstraksi

Metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi dimana serbuk padatan buah Goji berry sebanyak 1kg di ekstraksi dengan etanol 96% dengan perbandingan (1:8). Hasil ekstraksi di tampung hingga 10 hari, kemudian hasil ekstraksi tersebut dipekatkan menggunakan *water bath* dengan suhu dibawah 50°C hingga dihasilkan ekstrak kental.

Penentuan Fase Gerak

Akan dilakukan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dengan berbagai komposisi jenis eluen atau fase gerak. Pemilihan fase gerak yang digunakan pada metode pemisahan dengan menggunakan KK (kromatografi kolom) didasarkan pada eluen yang memberikan jumlah noda paling banyak dan

TABEL 1. Hasil Penetapan Standarisasi Ekstrak Etanol Buah Goji berry

Parameter	Hasil	Keterangan	
Organoleptis	Warna	Hitam kemerahan	
	Bau	Tidak berbau	
	Tekstur	Semi solid	
Kadar Air		26,02 %	
	Kadar Abu	6,09 %	
Skrining Kualitatif	Tanin	Hijau	Memenuhi persyaratan (Positif)
		Kecoklatan	Memenuhi persyaratan (Positif)
	Flavonoid	Kuning muda	Memenuhi persyaratan (Positif)
		Tidak ada endapan orange	Tidak memenuhi persyaratan (Negatif)
	Saponin	Tidak timbul busa	-

memberikan spektrum daya antioksidan yang paling luas.

Kromatografi Kolom

Untuk pemisahan komponen dengan menggunakan kromatografi kolom, dimasukkan bubuk *silica gel* 70-230 mesh sambil diaduk agar tidak terdapat rongga udara di tengah-tengah kolom. Timbunan bubuk *silica gel* dalam kolom mencapai tiga perempat tinggi kolom Ekstrak buah Goji berry dimasukkan ke dalam kolom kromatografi yang telah dilarutkan dengan sedikit larutan pengelusi sambil kran kolom dibuka. Kemudian fraksi ditampung dalam vial per 10 ml. Setiap fraksi akan dianalisa daya antioksidannya secara kualitatif dengan metode KLT. Fraksi-fraksi tersebut ditotolkan pada fase diam silika gel 60 GF₂₅₄, dieluasi dengan fase gerak terpilih dan disempromot dengan larutan DPPH 0,2% b/v. Fraksi yang memiliki daya antioksidan akan memberikan noda berwarna kuning pada latar belakang ungu. Fraksi yang mempunyai harga R_f dan daya antioksidan yang sama dikumpulkan menjadi satu dan selanjutnya akan diuji daya antioksidannya secara kuantitatif dengan metode DPPH yang dibandingkan dengan ekstrak etanolnya (Markham, 1988).

Identifikasi Golongan Senyawa

Fraksi terpilih dilarutkan dengan etanol kemudian dianalisa dengan spektrofotometri UV-Vis pada λ 200-400 nm. Identifikasi dilanjutkan dengan pereaksi geser AlCl₃. Dan diidentifikasi dengan Spektroskopi Inframerah untuk mengetahui golongan metabolit sekunder dari ekstrak etanol buah Goji berry.

Penetapan Daya Antioksidan

Disiapkan fraksi yang terpilih dengan rentang antara 1 mg/ml – 3.10⁻³ mg/ml. Kuersetin yang digunakan sebagai kontrol positif juga disiapkan dalam tujuh rentang konsentrasi yang berbeda.

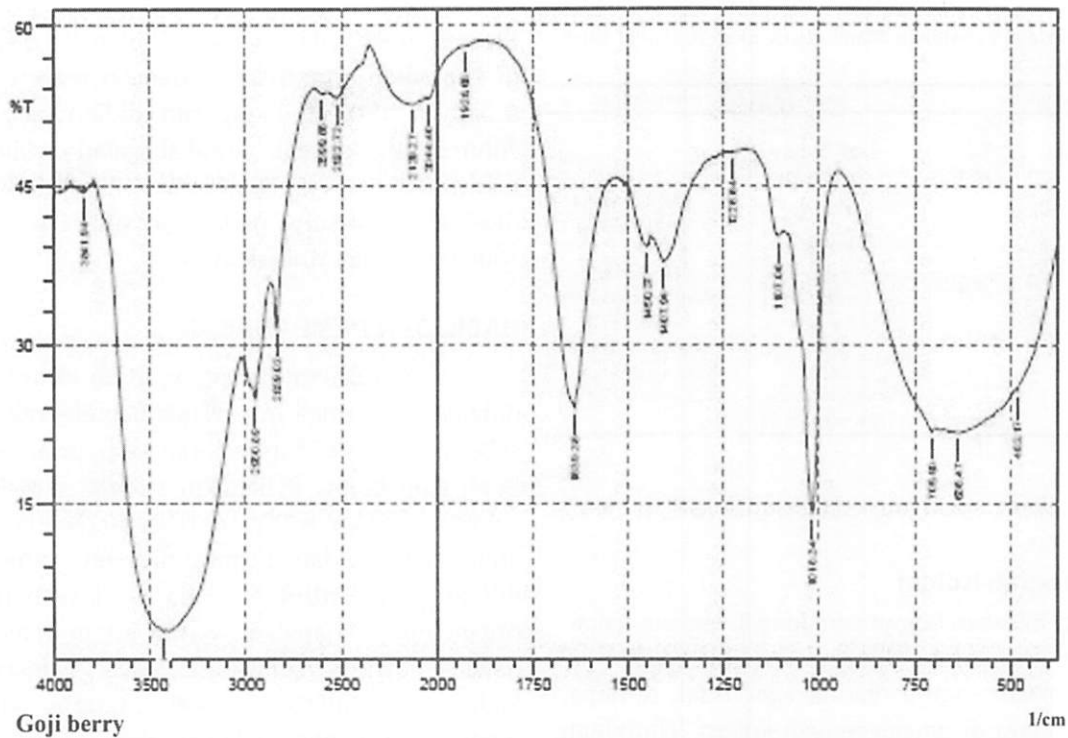
Pipet sampel ke dalam 96-well plate sebanyak 20 μ l kemudian ditambahkan dengan reagen DPPH sebanyak 180 μ l. campuran didiamkan dalam suhu ruang dengan kondisi gelap selama 30 menit. Selanjutnya, campuran sampel dan DPPH dicek absorbansinya pada λ 517 nm (Cavin *et al.*, 1998) pada alat Multiskan Go.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari sebanyak 433,95 gram ekstrak yang didapat, diperoleh nilai rendemen ekstrak etanol sebesar 48,22% dari sekitar 900 gram serbuk buah Goji berry. Penetapan standarisasi ekstrak yang dilakukan terdiri dari organoleptis, kadar abu, kadar air dan skrining fitokimia yang dapat dilihat pada **Tabel 1**. Pada hasil pemeriksaan organoleptis didapatkan warna hitam kemerahan dengan bentuk semisolid. Pada pemeriksaan kadar air diperoleh hasil 26,02%, dimana menyatakan bahwa kadar air dari ekstrak etanol buah Goji berry cukup besar, hal ini kemungkinan disebabkan karena masih terdapat sisa dari etanol atau adanya kandungan senyawa menguapnya lebih besar. Dilakukan pemeriksaan kadar air ini bertujuan untuk mengetahui besarnya kandungan air dalam ekstrak etanol. Pada penetapan kadar abu ekstrak diperoleh hasil 6,09%. Penetapan ini bertujuan untuk mengetahui gambaran kandungan mineral yang berasal dari simplisia kering sampai terbentuknya ekstrak. Dari hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak etanol positif mengandung tanin dan flavonoid. Sedangkan untuk alkaloid dan saponin menunjukkan hasil negatif.

Dari beberapa variasi fase gerak yang dicobakan, didapatkan hasil bahwa kloroform:etil asetat merupakan fase gerak terpilih yang dapat memberikan keterpisahan noda yang banyak dan memberikan spektrum daya antioksidan yang paling luas. Eluen yang terpilih tersebut akan digunakan untuk fraksinasi dengan metode kromatografi kolom. Dari proses pemisahan didapatkan fraksi yang kemudian ditotolkan dan diuji secara kualitatif menggunakan larutan DPPH 0,2%, sehingga didapatkan satu fraksi yang paling aktif sebagai antioksidan.

Berdasarkan hasil identifikasi senyawa dilakukan pada fraksi menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan spektroskopi *infrared*, spektrofotometer UV-Vis memberikan serapan maksimum pada panjang gelombang 238 nm untuk fraksi dari ekstrak etanol buah Goji berry. Setelah



GAMBAR 1. Profil analisa infrared pada fraksi dari ekstrak etanol buah Goji berry.

TABEL 2. Identifikasi Puncak Spektrum IR Fraksi dari Ekstrak Etanol Buah Goji berry

Gugus Fungsi	Bilangan Gelombang (cm ⁻¹) Senyawa
OH	3000-3500
-C=O	1639
C-O-C	1226

TABEL 3. Hasil Penentuan Nilai IC₅₀

Sampel	IC ₅₀ (mg/ml)	Persamaan Regresi Linier
Ekstrak Etanol	30,453	Y = 0,839X + 24,459
Fraksi	3,750	Y = 9,781X + 13,321
Pembanding (Kuersetin)	3,618	Y = 5,192X + 31,213

ditambahkan dengan pereaksi geser AlCl₃ menunjukkan pergeseran sebesar 5 nm. Dari penafsiran panjang gelombang yang dihasilkan, maka fraksi termasuk golongan flavonoid sesuai dengan penafsiran spektrum pada senyawa tersebut untuk panjang gelombang maksimum pita II pada flavonoid (Markham, 1988).

Selanjutnya, dilakukan identifikasi senyawa spektrum inframerah yang bertujuan untuk mengetahui gugus fungsi yang terdapat dalam golongan senyawa metabolit sekunder yang didapat dari hasil spektrum UV-Vis. Pada hasil analisa inframerah menunjukkan gugus fungsi dari fraksi memberikan spektrum pada gelombang 3000-3500 cm⁻¹ gugus alkohol (OH),

1639 cm⁻¹ gugus karbonil (-C=O), 1226 cm⁻¹ gugus eter (C-O-C) (Tabel 2 ; Gambar 1).

Dari hasil penentuan uji daya antioksidan dengan DPPH 0,2% diperoleh nilai IC₅₀ yang dapat dilihat pada (Tabel 3). Dari hasil penelitian yang didapat bahwa harga IC₅₀ dari ekstrak etanol buah Goji berry dibandingkan dengan kuersetin lebih rendah kemampuannya dalam meredam radikal bebas. Untuk fraksi kemampuannya dalam meredam radikal bebas lebih tinggi bila dibandingkan dengan ekstrak etanol daun sirsak.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa buah Goji berry memiliki senyawa antioksidan yaitu flavonoid. Berdasarkan pada data yang ada, senyawa flavonoid terduga adalah golongan flavon atau flavonol. Selain itu golongan senyawa metabolit sekunder dari hasil fraksinasi ekstrak etanol memiliki aktivitas antioksidan yang cukup baik dibandingkan dengan ekstrak etanol buah Goji berry yang ditinjau dari harga IC₅₀ fraksi etanol buah Goji berry (IC₅₀ = 3,7502) mempunyai sifat antiradikal bebas lebih besar dari pada ekstrak etanolnya (IC₅₀ = 30,4531).

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim, 2009, Goji (*Lycium barbarum* and *L. chinense*): **Phytochemistry, Pharmacology and Safety in the Perspective of Traditional Uses and Recent Popularity**, Georg Thieme Verlag KG Stuttgart. New York.
- Belmekki N and Bendimerad, 2012, Antioxidant activity and phenolic content in methanol crude extracts from three Lamiaceae grown in southwestern Algeria, **Journal Natural Product Plant Resour**, Scholars Research Library, 2, 175-181.
- Chao S, Schreuder M, Young G, and Nakaoka K, 2004, Pre Clinical Study: Antioxidant Levels and Immunomodulatory Effects of Wolfberry Juice and Other Juice Mixtures in Mice. **The Journal of the American Nutraceutical Association**, 7.
- Harvey D, 2000, **Modern Analytical Chemistry**. New York : The McGraw-Hill Companies. Inc.
- Hazra B and Sarkar R, 2010, **Comparative study of the antioxidant and reactive oxygen species scavenging properties in the extracts of the fruits of Terminalia chebula, Terminalia belerica and Emblica officinalis**, Biomed Central.
- Heinrich M, Barnes J, Gibbons S, and Williamson EM, 2004, **Fundamentals of Pharmacognosy and Phytotherapy**, Churchill Livingstone, London, 109-115.
- Luo Q, Yizhong C, Jun Y, Mei S, and Harold C, 2004, Hypoglycemic and hypolipidemic effects and antioxidant activity of fruit extracts from *Lycium barbarum*, **Life Sciences**, 76, 137-149.
- Markham K, 1988, **Cara Identifikasi Flavonoid**, penerjemah K. Padmawinata, Penerbit ITB, Bandung, 29-32.
- Proctor PH, Reynolds ES, 1984, Free Radicals and Disease in Man, **Physiol Chem Phys Med**, 16, 175-95.
- Tjitrosoepomo G, 1994, **Taksonomi Tumbuhan Obat**. Gajah Mada University, Yogyakarta.
- Valko M, 2006, **Journal Free Radicals and Antioxidant in Normal Physiological Function and Human Disease**, Elsevier.