

AKTIVITAS ANTIOKSIDAN FRAKSI METANOL EKSTRAK DAUN MIMBA (*Azadirachta Indica Juss*)

Supriyanto¹ Simon, BW², Rifa'i, M³ Yunianta²

¹ Mahasiswa S3 Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya Malang

¹ Staf Pengajar Fakultas Pertanian Universitas Trunojoyo Madura

² Staf Pengajar Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya Malang

³ Staf Pengajar Fakultas MIPA Universitas Brawijaya Malang

E-mail: maspri1704@yahoo.com

Abstrak. Mimba merupakan tanaman herbal mempunyai banyak potensi salah satunya adalah sebagai sumber antioksidan. Antioksidan dari ekstrak daun mimba dapat digunakan untuk mencegah terjadinya oksidasi. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak daun mimba berdasarkan nilai IC50. Pada penelitian ini daun mimba ekstrak dengan metode maserasi selama 3x 24 jam dengan menggunakan pelarut methanol 80%. Selanjutnya ekstrak methanol daun mimba yang mempunyai aktivitas antioksidan tertinggi dipartisi dengan n-hexan, etil asetat dan air. Hasil partisi selanjutnya dianalisa aktivitas antioksidannya dengan metode DPPH serta ditentukan nilai IC50. Hasil penelitian menunjukkan bahwa fraks etil asetat mempunyai aktivitas antioksidan tertinggi dengan nilai IC50 101,53 ppm.

Kata kunci : daun mimba, Fraksinasi, Antioxidant, DPPH, IC50

1. Pendahuluan

1.1. Latar Belakang

Indonesia merupakan Negara tropis yang kaya akan tanaman herbal salah satunya adalah mimba. Tanaman mimba (*Azadirachta indica Juss.*) merupakan salah satu tanaman herbal yang tumbuh di Negara-negara tropis seperti India, Paksistan, Burma dan Indonesia [1]. Tanaman mimba di Indonesia tersebar di beberapa daerah seperti di Jawa Barat, Jawa Timur dan Madura. Masyarakat Madura menyebut mimba dengan nama mimbheh, di Bali dikenal dengan intaran sedangkan di Jawa dikenal dengan nama imba atau mimba.

Tanaman ini tumbuh di dataran rendah pada ketinggian 300 meter di atas permukaan air laut. Tanaman mimba (*Azadirachta indica Juss.*) merupakan pohon yang tinggi batangnya dapat mencapai 20 m [1].

Tanaman mimba mengandung senyawa bioaktif baik pada bagian batang, daun maupun bijinya. Hampir semua bagian dari pohon mimba mempunyai khasiat obat. Daun mimba mengandung senyawa-senyawa bioaktif diantaranya adalah β -sitosterol, hyperoside, nimbolide, quercetin, quercitrin, rutin, azadirachtin, dan nimbine [2].

Ekstrak daun mimba mempunyai aktifitas sebagai antioksidan [3]. Antioksidan adalah senyawa yang dapat menunda atau memperlambat kecepatan oksidasi bahan-bahan yang teroksidasi [4]. Antioksidan dapat menghambat oksidasi lipid melalui pengikatan oksigen secara kompetitif, menghambat tahap inisiasi, memblokir tahap propagasi dengan cara merusak atau mengikat radikal bebas, menghambat catalis atau menstabilkan hidrogenperoxide [4]. Selain bersifat antioksidan daun mimba juga bersifat anti bakteri. Mimba mengandung senyawa bioaktif alkaloid, steroid, flavonoid saponin dan tannin. Senyawa-senyawa tersebut dapat menghambat pertumbuhan bakteri *salmonella* dan *E. Coli* [5].

Penelitian untuk mengetahui potensi dari daun mimba telah banyak dilakukan dengan melakukan ekstraksi senyawa bioaktif. Telah dilakukan penelitian ekstraksi senyawa bioaktif yang pada daun mimba dengan menggunakan pelarut yang berbeda-beda yaitu petroleum, ether dan methanol [6]. Sedangkan [7] melakukan ekstraksi daun mimba dengan pelarut chloroform dengan metode maserasi selama 24 jam. Fraksinasi merupakan proses pemisahan senyawa-senyawa berdasarkan golongan-golongannya sehingga bisa mendapatkan senyawa yang lebih murni. Penelitian dengan melakukan

fraksinasi terhadap ekstrak daun mimba belum pernah dilakukan. Penelitian ini dengan melakukan ekstraksi menggunakan metode maserasi menggunakan variasi pelarut kemudian dilanjutkan dengan fraksinasi.

1.2. Tujuan Penelitian

1.2.1. Menentukan jenis dan kosentrasi ekstrak daun mimba yang mempunyai aktivitas antioksidan yang optimal

1.2.2. Menentukan aktivitas antioksidan yang optimal dari fraksi ekstrak methanol daun mimba

1.3. Metodologi

1.3.1. Alat

Peralatan yang digunakan pada penelitian ini antara lain : *Rotary evaporator*, *shaker*, spektrofotometer, mikropipet, timbangan dan alat-alat gelas untuk analisa

1.3.2. Bahan

Daun mimba yang diperoleh dari kecamatan Kamal Bangkalan, DPPH, methanol, etanol, aluminium klorida 1%, ammonia encer, ammonium hidroksida pekat dan encer, asam asetat anhidrida, asam asetat glasial, asam klorida 1%, asam klorida 0,1 N, asam sulfat pekat dan bahan-bahan lain untuk analisa kimia

1.3.3. Jalannya penelitian

▪ Pembuatan ekstrak

Daun mimba yang digunakan adalah yang berwarna hijau tua kira-kira berumur 2 bulan setelah tunas. Sebelum digunakan daun mimba dikeringanginkan selama satu hari kemudian dilakukan pengecilan ukuran menggunakan blender. Serbuk daun mimba sebanyak 100 gram di ekstraksi menggunakan pelarut air, etanol 60%, etanol 80%, methanol 60% dan methanol 80% dengan metode maserasi.

Kemudian larutan tersebut dimaserasi selama 48 jam dalam ruang tertutup dengan dilakukan penggojogan/shaker. Setelah 48 jam sampel disaring dan filtrate yang diperoleh ditampung dalam Erlenmeyer. Filtrat yang telah diperoleh selanjutnya dilakukan evaporasi menggunakan rotary evaporator pada suhu 40°C sampai diperoleh ekstrak pekat. Ekstrak pekat yang diperoleh selanjutnya dianalisa aktivitas antioksidannya menggunakan metode DPPH dan dilihat nilai IC50nya. Ekstrak Pekat yang mempunyai aktivitas antioksidan tertinggi selanjutnya difraksinasi menggunakan N-Hexan, Etil Asetat dan Air

▪ Fraksinasi

Ekstrak pekat yang mempunyai aktivitas antioksidan tertinggi, diambil sebanyak 100 g dan ditambahkan aquades sebanyak 400 ml dan dihomogenkan kemudian dimasukkan dalam corong pemisah. Tambahkan 200 ml N-Hexan kemudian digojog dan didiamkan sehingga larutan terpisah menjadi dua bagian. Bagian atas merupakan larutan N-Hexan dan larutan bawah merupakan larutan air. Selanjutnya pisahkan antara larutan N-Hexan dengan air dengan membuka kran pada corong pemisah. Larutan N-Hexan diuapkan menggunakan rotari evaporator sehingga diperoleh ekstrak kental. Filtrat atau larutan air hasil pemisahan ditambahkan 200 ml etil asetat dan selanjutnya digojog dan didiamkan sampai terjadi pemisahan. Larutan bagian atas merupakan etil asetat sedangkan bagian bawah adalah air. Pisahkan kedua larutan tersebut dengan cara membuka kran bagian bawah corong pemisah. Selanjutnya masing-masing larutan diuapkan menggunakan rotari evaporator sampai diperoleh ekstrak pekat. Ekstrak pekat yang diperoleh dari masing-masing fraksi kemudian dianalisis aktivitas antioksidannya menggunakan metode DPPH dengan melihat nilai IC50.

- Analisis aktivitas antioksidan

Disiapkan sampel ekstrak daun mimba masing-masing fraksi . Langkah pertama yaitu membuat larutan induk masing-masing sampel sebesar 100 ppm dengan melarutkan 10 mg ekstrak pada 100 ml metanol PA. Selanjutnya melakukan pengenceran menggunakan pelarut metanol PA dengan membuat variasi konsentrasi yaitu 5 ppm, 6 ppm, 7 ppm, 8 ppm dan 9 ppm pada tiap masing-masing sampel.

Disiapkan larutan stock DPPH 50 ppm. Larutan stock DPPH dibuat dengan melarutkan 5 mg padatan DPPH ke dalam 100 ml metanol PA. Kemudian disiapkan larutan perbandingan, yaitu larutan kontrol yang berisi 2 ml metanol PA dan 1 ml larutan DPPH 50 ppm. Untuk sampel uji, disiapkan masing-masing 2 ml larutan sampel dan 2 ml larutan DPPH. Kemudian, di inkubasi selama 30 menit pada suhu 27°C hingga terjadi perubahan warna dari aktivitas DPPH. Semua sampel dibuat triplo. Semua sampel yaitu sampel ekstrak yang telah di inkubasi di uji nilai absorbansinya menggunakan spektrofotometer Uv-vis pada panjang gelombang 517 nm. Aktivitas antioksidan dinyatakan dengan menghitung nilai IC50 yang diperoleh dari persamaan regresi linier dari data absorbansi di atas. Sebagai pembanding atau standar digunakan vitamin C.

2. Pembahasan

Aktivitas antioksidan ekstrak daun mimba dinyatakan dengan nilai IC50. Nilai IC50 merupakan konsentrasi efektif ekstrak yang dibutuhkan untuk meredam 50% dari total radikal bebas DPPH. Hasil analisa aktivitas antioksidan ekstrak daun mimba dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Aktivitas antioksidan ekstrak daun mimba

Jenis Pelarut	Konsentrasi	Aktivitas antioksidan (IC50 (ppm))
Air		90,3922a
Etanol	60%	88.6988b
	80%	88.1273c
Metanol	60%	87.5173d
	80%	83,2796e

Berdasarkan Tabel 1. Ada pengaruh nyata jenis pelarut dan konsentrasi pelarut terhadap aktivitas antioksidan ekstrak daun mimba. Semakin tinggi konsentrasi pelarut maka aktivitas antioksidan semakin tinggi hal tersebut disebabkan semakin banyak senyawa dalam jaringan yang terekstrak dalam pelarut. Ekstrak metanol mempunyai aktivitas antioksidan lebih tinggi dibanding dengan pelarut etanol maupun air. Hal tersebut disebabkan karena metanol merupakan pelarut yang bersifat semi polar sehingga mempunyai kemampuan untuk melarutkan senyawa yang bersifat polar maupun non polar., Sedangkan air merupakan pelarut polar yang hanya bisa melarutkan senyawa yang bersifat polar. Metanol mempunyai kemampuan yang lebih baik dibanding dengan etanol dan air dalam melarutkan senyawa polar maupun non polar.

Aktivitas antioksidan dari seluruh sampel berkisar 83, 28 sampai 90,39. Semakin kecil nilai IC50 menunjukkan aktivitas antioksidan semakin tinggi.

Aktivitas antioksidan berdasarkan nilai IC50 dibagi menjadi empat yaitu, sangat kuat, kuat, sedang dan lemah [8]. Aktivitas antioksidan berdasarkan nilai IC50 dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Aktivitas antioksidan berdasarkan nilai IC50

Nilai IC50	Aktivitas Antioksidan
< 50 ppm	Sangat Kuat
50 ppm – 100 ppm	Kuat
100 ppm – 150 ppm	Sedang
150 ppm – 200 ppm	Lemah

Sumber : [8]

Berdasar parameter Tabel 2, ekstrak daun mimba seluruh perlakuan mempunyai aktivitas antioksidan yang kuat karena nilai IC50 <100

Berdasarkan tabel 1. Ekstrak metanol 80% daun mimba mempunyai aktivitas antioksidan paling tinggi atau nilai IC50 paling rendah dengan nilai 83,27 . Ekstrak metanol 80% daun mimba selanjutnya difraksinasi menggunakan N-hexan, etil asetat dan air.

1.4. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Mimba

Proses fraksinasi selanjutnya dengan menggunakan n-heksana yang bersifat non polar, karena pada prinsipnya fraksinasi merupakan proses penarikan senyawa menggunakan dua pelarut yang berbeda sifat kepolarannya. Fraksinasi menggunakan n-heksana bertujuan untuk mengekstrak lemak dan terpena. Residu metanol-air yang diperoleh difraksinasi dengan etil asetat untuk mengisolasi senyawa semi polar. Dalam ekstrak metanol masih terdapat berbagai kelompok senyawa metabolit sekunder sehingga perlu dilakukan pemisahan senyawa melalui proses fraksinasi. Hasil analisa aktivitas antioksidan fraksi ekstrak methanol daun mimba dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Aktivitas antioksidan fraksi methanol ekstrak daun mimba

Fraksi	Aktivitas antioksidan IC50 (ppm)
Vit C	99.25a
Hexan	106.51b
Etil Asetat	101.53c
Air	394.20d

Berdasarkan Tabel 3. Fraksi etil asetat mempunyai aktivitas antioksidan tertinggi dibanding fraksi hexan dan air. Hal tersebut disebabkan karena etil asetat merupakan pelarut semi polar sehingga bisa menarik senyawa polar maupun non polar yang ada pada daun mimba.

Penggunaan pelarut yang berbeda tingkat kepolaran mempengaruhi jenis senyawa yang terekstrak. Fraksi etil asetat terkandung senyawa seperti asam-asam lemak dan fitosterol yang mempunyai aktivitas antioksidan sedangkan ekstrak air berisi senyawa karbohidrat (glukosa dan sukrosa)

3. Simpulan

- 3.1. Ekstrak mimba dengan pelaut methanol pada konsentrasi 80% mempunyai aktivitas antioksidan tertinggi dengan nilai IC50 80ppm
- 3.2. Fraksi etil asetat ekstrak methanol daun imba mempunyai aktivitas antioksidan tertinggi dengan nilai IC50 101.5393 ppm

Ucapan Terima Kasih

Pada kesempatan ini kami mengucapkan banyak terima kasih pada para pembimbing dan teman-teman yang membantu terlaksananya penelitian ini. Tak lupa kami juga mengucapkan terima kasih kepada Kemenristek Dikti yang telah memberikan beasiswa untuk melakukan penelitian ini lewat beasiswa BPDN

Daftar Pustaka

- [1]. H. . Puri, *Neem The Divine Tree*. 2006.
- [2]. Tiwari P, Kumar B, Kaur M, Kaur G, and Harleen Kaur, 2011, Phytochemical screening and Extraction, Review, *Internationale Pharmaceutica Scientia*, Vol. 1(1), p 98-106
- [3]. G. Balaji and M. Cheralathan, "Experimental investigation of antioxidant effect on oxidation stability and emissions in a methyl ester of neem oil fueled DI diesel engine," *Renew. Energy*, vol. 74, no. x, pp. 910–916, 2015.
- [4]. G. Nahak and R. K. Sahu, "In vitro antioxidative acitivity of Azadirachta indica and Melia azedarach Leaves by DPPH scavenging assay," *Nat. Sci.*, vol. 8, no. 4, pp. 22–28, 2010.
- [5]. S. Susmitha, K. K. Vidyamol, P. Ranganayaki, and R. Vijayaragavan, "Phytochemical extraction and antimicrobial properties of azadirachta indica (neem)," *Glob. J. Pharmacol.*, vol. 7, no. 3, pp. 316–320, 2013.
- [6]. I. Khan, S. R. Srikakolupu, S. Darsipudi, S. D. Gotteti, and H. Amaranadh, "Phytochemical studies and screening of leaf extracts of Azadirachta indica for its anti-microbial activity against dental pathogens," *Arch. Appl. Sci. Res.*, vol. 2, no. 2, pp. 246–250, 2010.
- [7]. D. W. I. Apristiani and P. Astuti, "Isolasi Komponen Aktif Antibakteri Ekstrak Kloroform Daun Mimba (*Azadirachta indica* A. Juss.) Dengan Bioautografi," *Biofarmasi*, vol. 3, no. 2, pp. 43–46, 2005.
- [8]. Molyneux, P. 2004, The use of the stable free radical diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarinn J. Sci. Technol.* 26, 211–219