



Senyawa Antioksidan Ekstrak Metanol *Glycine max* (L.) Merr Varietas Detam 1 Hasil Estraksi Ultrasonik

(Antioxidant compounds of Methanolic Extract of Soybean (*Glycine max* (L) Merrill) Detam 1
variety from Ultrasound extraction method)

Rika Yulia* & Ivon Sindu Wijaya

Fakultas Farmasi Universitas Surabaya

Keywords:

Glycine max Detam 1
variety, Antioxidant
compounds, Methanol
extract, Ultrasonic

Kata kunci:

Glycine max varietas
Detam 1, Senyawa
antioksidan, Ekstrak
metanol, Ultrasonik

ABSTRACT: The objective of this study is to find antioxidant compounds which are contained in methanol extract of *Glycine max* Detam 1 variety from Ultrasound extraction method. Extraction has done by two solvents; n-hexane solvent to eliminate the soy fat which can affect the analysis result and methanol 80% to take the active compounds in soybean. The result of extraction was concentrated by using Rotary evaporator (BUCHI Rotavapor R-114) and BUCHI Water bath B-480. As the result of this study, there were three antioxidant compounds detected, i.e. Methyl-10-trans,12-cis-octadecadienoate, Methyl 9-cis,11-trans-octadecadienoate, and 9,12-Octadecadienoic acid.

ABSTRAK: Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan senyawa antioksidan yang terkandung dalam ekstrak metanol *Glycine max* (L.) Merr varietas Detam 1 hasil dari ekstraksi dengan metode ultrasonik. Ekstraksi dilakukan dengan 2 pelarut yaitu pelarut n-heksan untuk menghilangkan lemak yang mungkin dapat mempengaruhi hasil selama analisis dan metanol 80% untuk mengambil senyawa aktif dalam kedelai. Hasil ekstraksi kemudian dipekatkan dengan Rotary evaporator (BUCHI Rotavapor R-114) dan BUCHI Waterbath B-480. Analisis dilakukan secara kualitatif dengan menggunakan Gas Chromatography-Mass Spectra (GS-MS). Analisis terhadap senyawa antioksidan menggunakan GC-MS menunjukkan terdapat tiga senyawa antioksidan yaitu Methyl-10-trans,12-cis-octadecadienoate, Methyl 9-cis,11-trans-octadecadienoate, dan 9,12-Octadecadienoic acid.

PENDAHULUAN

Kemampuan radikal bebas mengoksidasi zat lain (oksidator), dapat menyebabkan kerusakan oksidatif di dalam tubuh. Sebagai contoh, spesies oksigen reaktif (*reactive oxygen species* - ROS), dapat bereaksi dengan makromolekul di dalam tubuh, seperti protein, lipid, dan asam nukleat, sebagai upaya untuk memperoleh pasangan elektron

sehingga tercapai kestabilan atom atau molekul. Reaksi ini merupakan reaksi rantai, berlangsung terus menerus dalam tubuh dan bila tidak dihentikan akan menimbulkan stress oksidatif. Kondisi tersebut berkontribusi terhadap timbulnya penyakit. Antioksidan, merupakan suatu substansi penting yang diperlukan oleh tubuh dalam mengatasi stress oksidatif, di mana antioksidan mampu menangkap radikal bebas tersebut

*Corresponding Author: Rika Yulia (Fakultas Farmasi Universitas Surabaya,
Jalan Raya Kalirungkut, Surabaya, 60293)
email: rika_y@staff.ubaya.ac.id

Article History:

Received: 10 Mar 2015

Published: 1 Nov 2015

Accepted: 27 Oct 2015

Available online: 8 Jan 2016

sehingga tidak dapat menginduksi suatu penyakit [1,2]. Secara alamiah sel memiliki sejumlah mekanisme perlindungan terhadap kerusakan akibat radikal bebas. Respons tubuh dalam mengatasi radikal bebas seperti ROS terdiri atas beberapa mekanisme detoksifikasi, yaitu berupa sistem terintegrasi yang melibatkan molekul non-enzimatik maupun enzimatis. Molekul non-enzimatik, seperti asam askorbat, α -tokoferol, dan *glutathione*. Enzim yang terlibat dalam mekanisme detoksifikasi seperti katalase (CAT), *glutathione* reduktase (GR), superoxide dismutase (SOD), polifenol oksidase (PPO), peroksidase (POX), dan lain-lain [3,4].

Kebutuhan akan antioksidan sekunder, yang dapat membantu peran antioksidan enzimatis dalam tubuh sebagai preventif terjadinya stress oksidatif semakin meningkat, terutama bahan alamiah. Kedelai memiliki potensi besar untuk dikembangkan sebagai alternatif antioksidan sekunder. Kedelai merupakan komoditas yang sangat diminati dan populer di masyarakat dengan berbagai macam bentuk olahannya dan terbukti memiliki aktivitas antioksidan sebagai penangkap radikal bebas [5,6,7].

Senyawa antioksidan alami pada tumbuhan umumnya adalah senyawa fenolik atau polifenolik yaitu golongan flavonoid seperti isoflavon [8]. Terdapat setidaknya tiga jenis isoflavon dalam kedelai yang terbukti berkhasiat sebagai antioksidan yaitu daidzein, glisitein, dan genistein, dimana genistein merupakan antioksidan yang paling kuat dan terbanyak konsentrasinya [9,10]. Senyawa bioaktif penting lainnya yang terdapat dalam kedelai yang berefek antioksidan yaitu asam-asam lemak tidak jenuh, saponin, dan vitamin E.

Aktivitas antioksidan kedelai *Glycine max* (L.) Merr dipengaruhi oleh banyak faktor, salah satunya adalah varietas. Beberapa penelitian yang membandingkan aktivitas biologis berbagai varietas biji kedelai telah dilakukan. Ekstrak

Glycine max (L.) Merr. varietas Argomulyo efektif dalam mengurangi kerusakan sel hepar mencit yang telah terintoksikasi Pb [11]. Terdapat variasi besarnya aktivitas antioksidan *Glycine max* (L.) Merr, varietas Burangrang, Ijen, Argomulyo dan Kaba [12].

Untuk mengetahui kandungan senyawa antioksidan, maka diperlukan suatu analisis. Digunakan biji kedelai hitam varietas Detam 1 yang merupakan kedelai unggulan berkualitas tinggi yang sudah diakui Badan Benih Nasional berdasarkan Surat Keputusan Menteri Pertanian November 2008 [13] karena mengandung protein lebih banyak dibandingkan jenis kedelai kuning.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Pada penelitian ini digunakan alat-alat sebagai berikut: blender, alat-alat gelas, neraca analitik (OHAUS Pa214 dan AND GR-202) pengayak mesh 20, bejana KLT (CAMAG), sinar UV, ultrasonik *bath* (*Ultrasonic Bronsonic* 8510E-MTH), thermometer, rotary evaporator yaitu BUCHI Rotavapor R-114, BUCHI *Vacuum pump* V-700, BUCHI *Waterbath* B-480, dan BUCHI *Vacuum controller* V-850, GC-MS (Shimadzu Model QP-2010 SE).

Bahan tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah biji kedelai hitam (*Glycine max* L.) Merr varietas Detam 1 yang telah disertifikasi oleh UPBS (Unit Pengelolaan Benih Sumber) BALITKABI (Balai Penelitian Tanaman Aneka Kacang dan Umbi), Malang, Jawa Timur.

Metode

Pembuatan ekstrak metanol *Glycine max*

Serbuk biji kedelai 50 g, diekstraksi dengan 100ml n-heksan dengan *ultrasonic bath*. Hasil ekstraksi disaring dengan menggunakan kertas

saring, sementara ampasnya diekstraksi kembali dengan n-heksan. Hasil ekstraksi pertama dan kedua kemudian digabung dan dikumpulkan dalam satu wadah. Ampas hasil ekstraksi dengan n-heksan ditambahkan pelarut yaitu metanol 80% (yang mengandung HCl 0,1%) sebanyak 150 ml, kemudian diekstraksi menggunakan *ultrasonic bath* selama 10 menit dengan suhu 60°C. Hasil ekstraksi disaring dan ampas diekstraksi kembali dengan metanol 80% pada *ultrasonic bath*. Hasil ekstraksi pertama dan kedua dikumpulkan dalam satu wadah. Ekstrak akan dibuat dari 400 g serbuk kedelai, sehingga dilakukan 8 kali proses yang sama. Keseluruhan hasil ekstraksi dikumpulkan dalam satu wadah untuk dipekatkan dengan *rotary evaporator* dan *water bath* sampai bobot konstan.

Pembuatan Larutan Ekstrak Kedelai Uji

Larutan uji dibuat dengan menimbang ekstrak kental kedelai sebanyak ± 60 mg dan dilarutkan dalam 10ml metanol p.a, sehingga diperoleh konsentrasi larutan ± 6000 bpj.

Analisis Kualitatif senyawa aktif Ekstrak Metanol Biji Kedelai Varietas Detam 1 dengan Kromatografi Gas Spektrometri Massa (KGSM)

Instrumen yang digunakan adalah GC-MS Shimadzu QP 2010 SE. Kondisi analisis pada penelitian ini yaitu menggunakan kolom Restek semipolar (Crossbond® 5% *diphenyl*/95% *dimethyl polysiloxane*) 60 m length x 0,25 mm ID x 0,25 μ m dF, gas pembawa helium, volume injeksi sampel 1,00 μ L, temperatur injektor 230°C, temperatur antarfase 250°C, temperatur kolom 150°C selama 2 menit lalu ditingkatkan sampai 240°C sampai 10 menit, laju aliran 1,21 ml/menit, dan waktu analisis 20 menit. Metode menggunakan energi ionisasi pada instrumen GC-MS sebesar 70 ev.

Dilakukan juga analisis dengan waktu analisis yang lebih lama yaitu 80 menit (Orhan et al., 2008) dengan kondisi analisis yaitu menggunakan kolom

Restek semipolar (Crossbond® 5% *diphenyl*/95% *dimethyl polysiloxane*) 60 m length x 0,25 mm ID x 0,25 μ m dF, gas pembawa helium, volume injeksi sampel 1,00 μ L, temperatur injektor 230°C, temperatur antarfase 250°C, temperatur kolom 60°C selama 10 menit dinaikkan sampai 220°C dengan laju 4°C/menit dan dipertahankan selama 10 menit, dinaikkan lagi sampai temperatur akhir 240°C dengan laju 1°C/menit, laju aliran 0,8 ml/menit, dan waktu analisis selama 80 menit.

HASIL DAN DISKUSI

Hasil pengujian organoleptis ekstrak metanol biji *Glycine max* varietas Detam 1 yang meliputi warna, bentuk dan bau dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil pengujian organoleptis ekstrak metanol biji *Glycine max* varietas Detam 1

Karakteristik	Pengujian
Bentuk	Gumpalan kental (sangat keras)
Warna	Coklat kehitaman
Bau	Agak merangsang

Profil Kromatografi Gas Spektrofotometri Massa Ekstrak Metanol *Glycine max* Varietas Detam 1 dengan Waktu Analisis 20 menit dan 80 menit dapat dilihat pada tabel 2 dan 3.

Senyawa yang berefek antioksidan, pada waktu retensi 17,040 menit: *Methyl-10-trans,12-cis-octadecadienoate* dan *Methyl 9-cis,11-trans-octadecadienoate* yang keduanya merupakan asam linoleat terkonjugasi dan memiliki sifat penangkap radikal bebas [14,15]. Begitu juga dengan senyawa *9,12-Octadecadinoic acid, methyl ester* merupakan ester asam linoleat yang berkhasiat sebagai antioksidan, tapi juga dilaporkan berkhasiat sebagai anti inflamasi dan anti arthritis. Namun ada literatur lain yang menyebutkan fungsi *9,12-Octadecadinoic acid, methyl ester* yaitu sebagai hepatoprotektif, antihistaminik hipokolesterolemik, dan antieksmik [16].

Pada spektra hasil MS dengan metode dan waktu analisis 80 menit tidak terdeteksi senyawa yang berefek antioksidan dan juga tidak ditemukan senyawa yang sama seperti yang terdeteksi pada metode pertama. Database yang digunakan pada instrumen GC-MS Shimadzu QP 2010 SE yaitu NIST08s.LIB, senyawa yang tidak diberi * menggunakan database WILEY8.LIB.

KESIMPULAN

Senyawa antioksidan dalam ekstrak metanol biji kedelai varietas Detam 1 antara lain: *Methyl-10-trans,12-cis-octadecadienoate*, dan *Methyl-9-cis,11-trans-octadecadienoate* yang merupakan asam linoleat terkonjugasi, dan *9,12-Octadecadinoic acid* yang merupakan ester asam linoleat.

Tabel 2. Data Senyawa Penyusun Ekstrak Metanol *Glycine max* Varietas Detam 1 dengan Metode dan Waktu Analisis 20 Menit

Waktu Retensi	Bobot molekul	Senyawa sesuai Database pada Instrumen GC-MS Shimadzu QP 2010 SE
8.150	414	13A,3A-(Epoxyethano)-1H-indolizino[8,1-CD]carbazol-7-ol
	370	Aspidospermidin-17-ol
	156	2-Nonenoic acid*
8.250	370	Aspidospermidin-17-ol
	168	bicyclo[2,2,1]Heptan-2-one
	168	Cyclopentaneacetic acid
8.375	192	2,7-Anhydro-1-galacto-heptulofuranose*
	172	1,2-dihydro-8-hydroxylinalool*
	186	2-tert-butyl-5-propyl-1,3-dioxolan-4-one
8.480	178	2,5-Monomethylene-1-rhamnitol*
	263	4,5,6,7-Tetrahydroxydecyl isothiocyanate*
	218	5-Acetyl-1,3;2,4-di-O-methylene-d-arabitol*
8.515	218	2-Butanone,3,3-dimethyl-1-(methylthio)-,O-[(methylamino-carbonyl]Oxime
	172	2,2-Dimethyl-3-hexanol acetate*
	162	1,6-Dideoxy-2,4-monoethylene-d-altritol*
8.535	254	11-Tridecenyl propionate*
	172	2,2-Dimethyl-3-hexanol acetate*
	242	Octanoic acid, Heptyl ester
8.600	209	5-Ethyl -3-(5-nitro-furan-2-yl)-[1,2,4]oxadiazole*
	269	1-β-d-Ribofuranosyl-3-[5-tetraazolyl]-1,2,4-triazole*
10.020	194	α-D-galactopyranoside, methyl atau Methyl Hexopyranoside
	194	α-D-glucopyranoside, methyl*
	194	α-Methyl-D-mannopyranoside*
11.660	194	Mome Inositol
	194	3-O-Methyl-d-glucose*
	194	4-O-Methylmannose*
17.040	294	Methyl-10-trans,12-cis-octadecadienoate*
	294	Methyl 9-cis,11-trans-octadecadienoate*
	294	9,12-Octadecadinoic acid, methyl ester

Keterangan: **Methyl-10-trans,12-cis-octadecadienoate*, *Methyl 9-cis,11-trans-octadecadienoate*, dan *9,12-Octadecadinoic acid*, *methyl ester* bersifat sebagai antioksidan.

Tabel 3. Data Senyawa Penyusun Ekstrak Metanol *Glycine max* Varietas Detam 1 dengan Metode dan Waktu Analisis 80 Menit

Waktu Retensi	Bobot molekul	Senyawa sesuai Database pada Instrumen GC-MS Shimadzu QP 2010 SE
4.270	44	Carbonic acid gas (CO ₂)
4.635	82	1-Chlorofluoroethane
	64	1,1-Difluoroethylene-2,2-D ₂
4.735	82	1-Chlorofluoroethane
	62	Isopropyl fluoride
5.355	104	Trimetoxymethane
5.600	118	Ethyl-2-hydroxypropanoate atau Ethyl ester of lactic acid
	46	Ethyl alcohol (EtOH)
8.590	102	Acetic anhydride
	72	Pyruvic aldehyde
30.605	128	Azunamic atau Azulene (CAS) Cyclopentacycloheptene
	128	Naphtaline
31.265	128	Naphtaline
	128	Azunamic atau Azulene (CAS) Cyclopentacycloheptene
32.695	126	Hydroxymethylfurfurole
	124	2-Methoxy-5-methyl pyrazine
46.785	194	α -D-Glucopyranoside, methyl(CAS)Methyl.alpha.-D-glucopyranoside
	194	α -D-Galactopyranoside, methyl(CAS)Methyl.alpha.-D-galactopyranoside
	178	α -L-Galactopyranoside, methyl 6-deoxy-(CAS)Methyl.alpha.-L-fucopyranoside

UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih kepada DIKTI yang telah mendanai penelitian ini melalui Hibah Bersaing untuk pendanaan tahun 2015.

DAFTAR PUSTAKA

- Winarsi, Hery. (2007). Antioksidan Alami dan Radikal Bebas Potensinya dan dalam Kesehatan, Penerbit Kanisius, Yogyakarta
- Suarsana, Wresdiyati T, Suprayogi A. (2013). Respon Stres Oksidatif dan Pemberian Isoflavon terhadap Aktivitas Enzim Superoksida Dismutase dan Peroksidasi Lipid pada Hati Tikus. JITV, 18(2).
- Birben E, Sahiner UM, Sackesen C, et al (2012). Oxidative Stress and Antioxidant Defense. WAO Journal, 9-19.
- Kumar S. (2011). Free Radicals and Antioxidants: Human and Food System. Adv Appl Sci Res, 2(1), 129-135
- Astuti S. (2008). Isoflavon Kedelai dan Potensinya Sebagai Penangkap Radikal Bebas, Lampung: Jurnal Teknologi Industri dan Hasil Pertanian, 13(2)
- Yulia R., Karina L., dan Veronica. (2014). Efek *Glycine max* Varietas Anjasmoro terhadap Kadar Timbal dan Malondialdehid pada Mencit Terintoksikasi Timbal. Jurnal Farmasi Indonesia, 7 (2), 27-33
- Yulia R, Ressandy, S.S., Puspikaryani, G.A.P et al. (2014) *Glycine max* Detam II Variety as Preventive and Curative Organ Damage due to Exposure to Lead (Pb). International Conference on Pharmaceutics and Pharmaceutical Sciences
- Barnes S.P. (2010). Lymphatic Research and Biology, The Biochemistry, Chemistry and Physiology of the Isoflavones in Soybeans and their Food Products
- Ginting E, Antarlina S.S and Sri Widowati. (2009). Varietas Unggul Kedelai untuk Bahan Baku Industri Pangan. Jurnal Litbang Pertanian, 28(3)
- Bhol, C. Sekhar. (2012). Isolation and Characterization of Soybean (*Glycine max*) Lectin. Tesis tidak dipublikasikan, Rourkela, National Institute of Technology Rourkela
- Yulia R, dan Ningsih TNJ. (2015). Aktivitas Ekstrak *Glycine max* (L.) Merr. Varietas Argomulyo Terhadap Kadar Timbal dalam Darah dan Gambaran Histologi Hepar Mencit Yang Terintoksikasi Timbal. Prosiding LLPM Unisba

12. Yulia R, Azminah, Michella, Andre T. (2015). An Assay of Antioxidant of Methanolic Extract Various of Soybean. *Jurnal Farmasi Sains dan Klinis*, 1(2), 122-131.
13. Hidayat, Meilinah, Dikdik K., et al. (2010). Perbandingan Kandungan Makronutrisi dan Isoflavon dari Kedelai Detam 1 dan Wilis serta Potensinya dalam Menurunkan Berat. *Bionatura: Jurnal Ilmu-ilmu Hayati dan Fisik*, 12(1), 5-13.
14. Yu, Liangli. (2001). Free Radical Scavenging Properties of Conjugated Linoleic Acids. *Journals of Agricultural and Food Chemistry*, 49(7), 3452-3456.
15. Aydin, R. (2005). Conjugated linoleic acid: chemical structure, sources and biological properties. *Turkish Journal of Veterinary Animal Science*, 29(2), 189-195.
16. Devi, J., & Muthu, A. K. (2014). Gas Chromatography-Mass Spectrometry Analysis of Bioactive Constituents in The Ethanolic Extract of *Saccharum spontaneum* Linn. *International Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences*, 6(2), 755-759.