



## PRODUKSI SUPLEMEN ANTIOKSIDAN ALAMI BERBAHAN BAKU KORO BENGUK (*Mucuna pruriens* (L.) DC.) PRA-FERMENTASI SEBAGAI PELUANG USAHA BARU DI ERA PANDEMIK

Sri Retno Dwi Ariani

Dosen P. Kimia FKIP Universitas Sebelas Maret  
Jl. Ir Sutami 36A Surakarta, Indonesia 57126

\* Untuk korespondensi: Tel/Fax 082137723769, [sriretno71@staff.uns.ac.id](mailto:sriretno71@staff.uns.ac.id)

### ABSTRACT

Di era new normal ini, tren masyarakat dalam mengonsumsi suplemen kesehatan, khususnya antioksidan, semakin meningkat. Kondisi tersebut dapat dibidik sebagai sebuah peluang usaha baru. Penelitian yang akan disampaikan berikut ini merupakan salah satu langkah eksplorasi antioksidan alami dari produk pangan lokal Indonesia, yaitu koro benguk dan produk-produk tempunya. Di Indonesia, koro benguk merupakan tanaman yang selama ini masih dikesampingkan (*under utilize crop*). Koro benguk lazim dibuat tempe yang merupakan makanan fermentasi tradisional khas daerah di Indonesia, yaitu di sebagian wilayah Jawa Tengah, DIY dan Jawa Timur.

Tahapan riset meliputi, penyediaan sampel berupa koro benguk serta produk tempunya yaitu, koro benguk kupas, koro benguk pra-fermentasi, tempe koro benguk fermentasi 24, 48, 72 dan 96 jam; melakukan proses maserasi bertingkat terhadap koro benguk dan produk tempunya dengan 3 jenis pelarut yang aman bagi kesehatan, yaitu etil asetat, etanol 70% dan air; melakukan uji aktivitas antioksidan dan uji total fenol terhadap seluruh ekstrak yang dihasilkan; melakukan isolasi dan identifikasi senyawa kimia yang terkandung dalam ekstrak dengan aktivitas antioksidan paling tinggi dengan metode HPLC, HPLC Preparatif dan LC-MS (ESI); melakukan penentuan aktivitas antioksidan isolat dengan asam askorbat sebagai pembanding dan uji stabilitas aktivitas antioksidan isolat L-Dopa pada penyimpanan suhu  $-4^{\circ}\text{C}$  dan suhu kamar selama 12 bulan.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol koro benguk pra-fermentasi (EEKBPF) adalah ekstrak dengan aktivitas antioksidan paling tinggi, EEKBPF mengandung L-Dopa sebagai senyawa dengan aktivitas antioksidan paling tinggi, L-Dopa berbentuk serbuk putih, rumus molekul  $\text{C}_9\text{H}_{11}\text{NO}_4$ , BM 197,08 g/mol dan titik leleh  $276^{\circ}\text{C}$ . Aktivitas antioksidan isolat L-Dopa ( $\text{IC}_{50} = 4,46$  ppm) lebih tinggi dibanding asam askorbat ( $\text{IC}_{50} = 5,26$  ppm) sebagai antioksidan pembanding. Terdapat pengaruh suhu dan waktu penyimpanan dari isolat L-Dopa terhadap aktivitas antioksidannya. Apabila proses produksi dan pemasaran suplemen antioksidan alami ini dapat terealisasi, maka diperlukan penyediaan bahan baku yang banyak dan kontinu. Hal ini akan membuka peluang bisnis baru dari hulu sampai ke hilir. Koro benguk layak dipertimbangkan sebagai tanaman prospektif dan bernilai ekonomis.

**Kata kunci :** Suplemen, antioksidan alami, koro benguk, L-Dopa

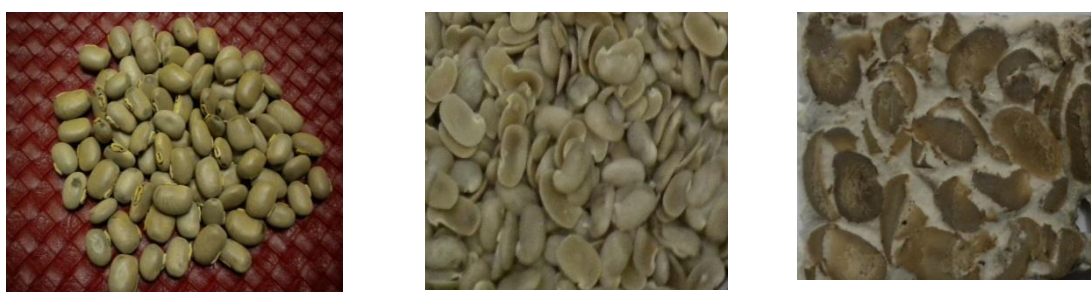
## PENDAHULUAN

Saat ini Indonesia tengah memasuki era *new normal*, di mana aktivitas normal kembali dijalankan dengan penerapan protokol kesehatan yang ketat. *New normal* membuat masyarakat harus beradaptasi dan bisa hidup berdampingan dengan Covid-19 [1]. Kekebalan tubuh yang kuat merupakan kunci pokok dalam melawan virus corona. Salah satu cara untuk meningkatkan kekebalan tubuh adalah dengan mengonsumsi suplemen kesehatan. Hal ini mengakibatkan tren masyarakat dalam mengonsumsi suplemen kesehatan semakin meningkat. Kondisi tersebut dapat dibidik sebagai sebuah peluang usaha baru bagi masyarakat.

Suplemen makanan adalah suatu produk kesehatan yang mengandung satu atau lebih senyawa yang bersifat obat atau nutrisi yang dikemas dalam bentuk tablet, kapsul, *soft* kapsul, serbuk atau cairan yang berfungsi sebagai pelengkap kekurangan zat gizi dalam tubuh [2]. Salah satu jenis suplemen yang direkomendasikan untuk meningkatkan kekebalan tubuh adalah suplemen antioksidan. Alasannya, karena asupan antioksidan dapat melawan radikal

bebas yang dapat melemahkan kekebalan tubuh kita.

Penelitian dan pemanfaatan sumber alam hayati sebagai bahan baku antioksidan perlu terus dikembangkan, dalam upaya penyediaan antioksidan dengan harga yang murah serta khasiat yang lebih efektif dan spesifik. Antioksidan adalah senyawa yang mempunyai struktur molekul yang dapat memberikan elektronnya kepada molekul radikal bebas tanpa terganggu sama sekali fungsinya dan dapat memutus reaksi berantai dari radikal bebas [3,4]. Penelitian yang akan disampaikan berikut ini merupakan salah satu langkah eksplorasi antioksidan alami dari produk pangan lokal Indonesia. Salah satu jenis *legume* yang layak dipertimbangkan sebagai sumber antioksidan alami adalah koro benguk (*Mucuna pruriens* (L.) DC.). Koro benguk (Gambar 1) lazim dibuat tempe yang merupakan makanan fermentasi tradisional khas daerah di Indonesia yaitu di sebagian wilayah Jawa Tengah, DIY dan Jawa Timur [5].



Gambar 1. Koro benguk (kiri), koro benguk pra-fermentasi (tengah) dan tempe koro benguk (kanan)

Di Indonesia, koro benguk merupakan tanaman yang selama ini masih dikesampingkan (*under utilize crop*). Manfaat tanaman koro benguk diantaranya sebagai sumber pangan, tanaman penutup tanah, pakan ternak dan tanaman perintis pada lahan-lahan tandus. Tanaman koro benguk memiliki kemampuan dapat menutup lahan dengan cepat, sangat produktif, tahan hama dan penyakit dan mudah menyesuaikan diri dengan kondisi lingkungan beragam [6]. Produksi koro benguk dapat mencapai 4 ton per hektar dengan harga di pasaran sebesar 10.000 rupiah/kg.

## METODE PENELITIAN

Dalam rangka eksplorasi antioksidan alami dari koro benguk dan produk-produk tempenya, maka akan disampaikan tahapan-tahapan penelitian di berikut ini:

1. Penyediaan sampel dari berupa koro benguk serta produk tempenya yaitu, koro benguk kupas, koro benguk pra-fermentasi, tempe koro benguk fermentasi 24, 48, 72 dan 96 jam.
2. Melakukan proses maserasi bertingkat terhadap koro benguk dan produk tempenya dengan 3 jenis pelarut yaitu etil asetat, etanol 70% dan air. Melakukan uji aktivitas antioksidan dan uji total fenol terhadap seluruh ekstrak yang dihasilkan.
3. Melakukan isolasi dan identifikasi senyawa kimia yang terkandung dalam

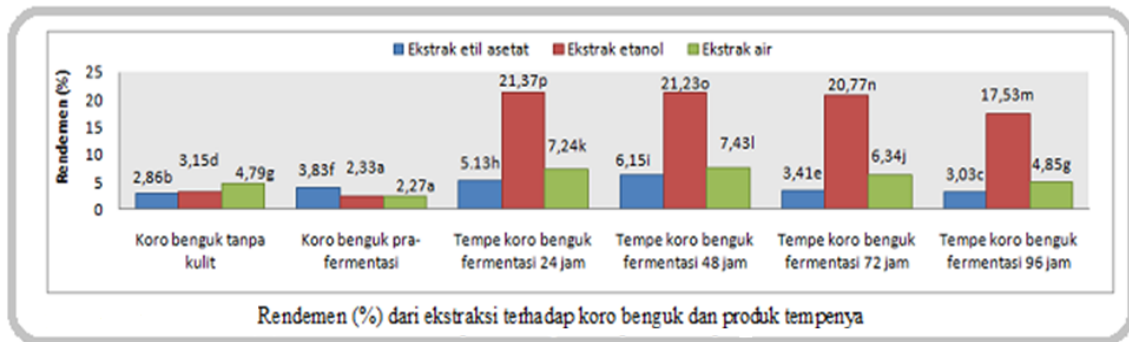
ekstrak dengan aktivitas antioksidan paling tinggi dari seluruh ekstrak koro benguk serta produk tempenya dengan metode HPLC, HPLC Preparatif dan LC-MS.

4. Penentuan aktivitas antioksidan isolat dengan asam askorbat sebagai pembanding.
5. Uji stabilitas aktivitas antioksidan isolat L-Dopa pada penyimpanan suhu  $-4^{\circ}\text{C}$  dan suhu kamar selama 12 bulan.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Pemilihan Ekstrak dengan Aktifitas Antioksidan Tertinggi dari Koro Benguk dan Produk Tempenya

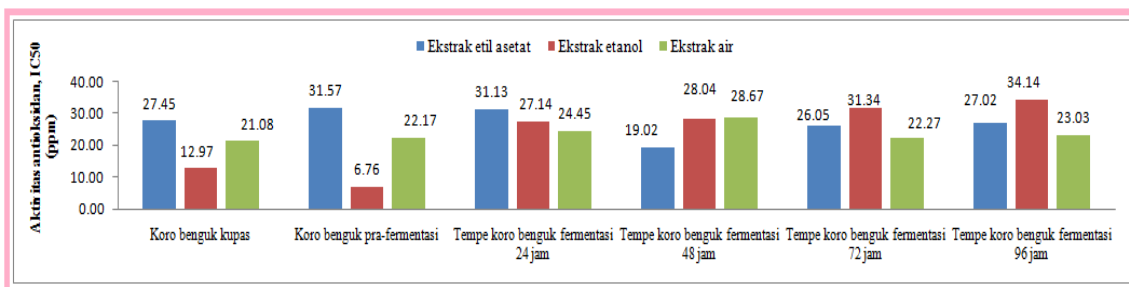
Salah satu upaya untuk menghasilkan ekstrak dengan aktivitas antioksidan yang optimum adalah dengan melakukan optimasi proses ekstraksi, karena kondisi ekstraksi yang berbeda akan menghasilkan ekstrak dan senyawa dengan aktivitas antioksidan yang berbeda pula. Tahap pertama yang dilakukan adalah proses maserasi bertingkat terhadap koro benguk dan produk-produk tempenya, dengan pelarut yang aman bagi kesehatan, diantaranya etil asetat, etanol dan air [7]. Dari proses maserasi diperoleh filtrat. Selanjutnya filtrat diuapkan pelarutnya dengan *rotary evaporator*, lalu ekstrak kental dioven pada suhu  $50^{\circ}\text{C}$  sampai diperoleh ekstrak bentuk pasta. Rendemen yang dihasilkan dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Rendemen yang dihasilkan dari proses maserasi bertingkat terhadap koro benguk dan produk tempenya

Selanjutnya terhadap tiap produk ekstrak dilakukan uji aktivitas antioksidan dengan Metode DPPH. Hasil uji aktivitas antioksidan seluruh produk ekstrak dapat dilihat pada Gambar 3. Ekstrak dengan aktivitas antioksidan tertinggi adalah

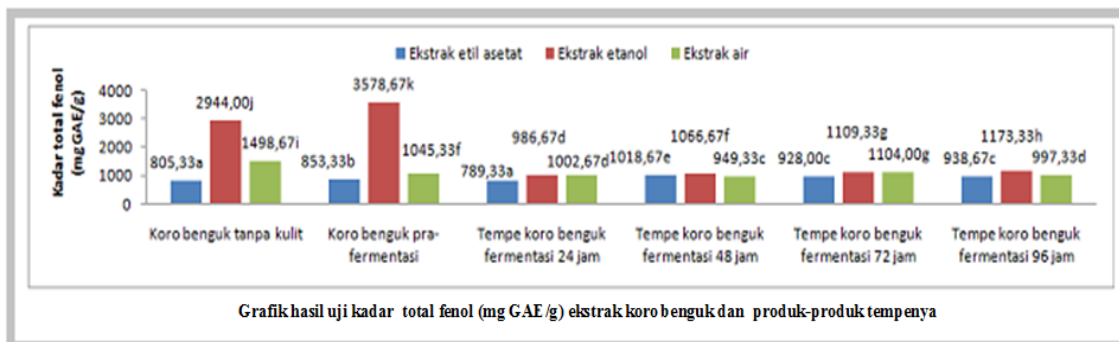
ekstrak etanol koro benguk pra-fermentasi ( $IC_{50}=6,76$  ppm) dan aktivitas antioksidan terendah adalah ekstrak etanol koro benguk fermentasi 96 jam ( $IC_{50} =34,14$  ppm).



Gambar 3. Hasil uji aktivitas antioksidan terhadap ekstrak koro benguk dan produk tempenya

Tahap berikutnya adalah dilakukan uji kadar total fenol terhadap seluruh ekstrak. Hasil uji total fenol dapat dilihat pada Gambar 4. Kadar total fenol tertinggi dari ekstrak koro benguk dan produk tempenya

adalah ekstrak etanol koro benguk pra fermentasi dan kadar total fenol terendah adalah ekstrak etil asetat tempe koro benguk fermentasi 24 jam.

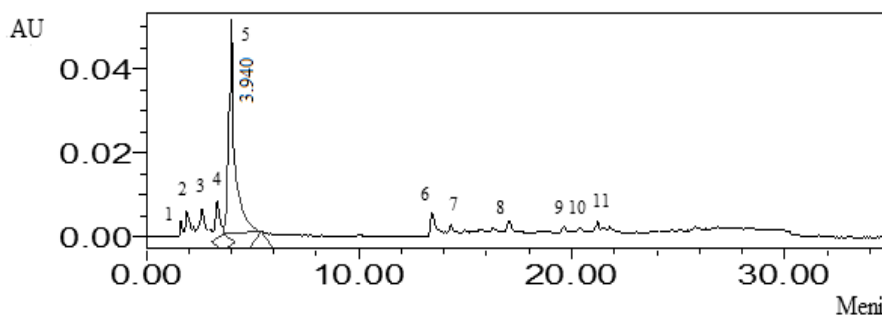


Gambar 4. Hasil uji total fenol terhadap ekstrak koro benguk dan produk tempenya

Setelah dilakukan uji aktivitas antioksidan dan uji kadar total fenol, diketahui bahwa ekstrak dengan aktivitas antioksidan dan kadar total fenol tertinggi dari seluruh ekstrak, diperoleh hasil yang sama. Ekstrak tersebut adalah ekstrak etanol koro benguk pra-fermentasi atau disingkat EEKBPF.

### Identifikasi Jumlah Komponen Kimia pada EEKBPF dengan Metode HPLC

Hasil identifikasi dengan metode HPLC terhadap EEKBPF menunjukkan bahwa EEKBPF mempunyai 11 puncak yang berarti mempunyai 11 senyawa (Gambar 5).

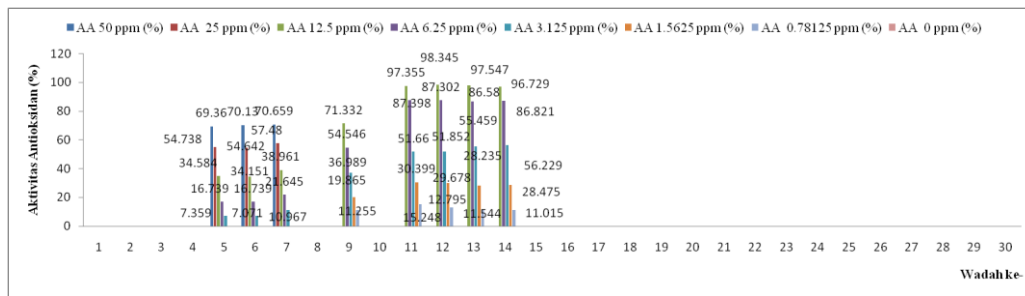


Gambar 5. Hasil Identifikasi dengan Metode HPLC terhadap EEKBPF

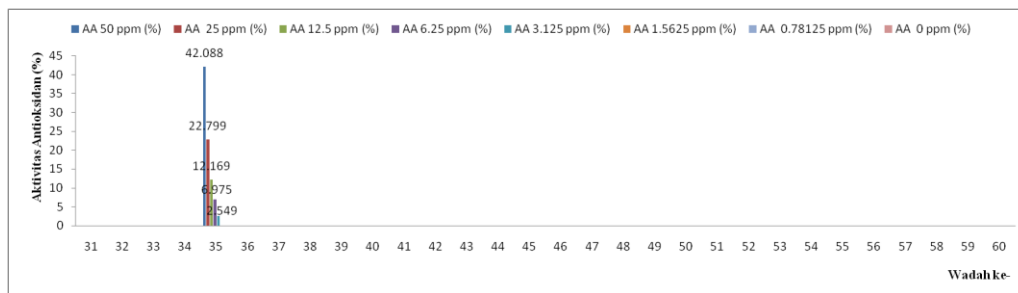
### Isolasi Senyawa Kimia yang Paling Aktif sebagai Antioksidan dalam EEKBPF dengan Metode HPLC Preparatif

Selanjutnya terhadap EEKBPF, dilakukan isolasi senyawa dengan aktivitas antioksidan paling tinggi. Proses isolasi dilakukan dengan metode HPLC preparatif. Dari hasil pemisahan dengan metode HPLC preparatif terhadap EEKBPF

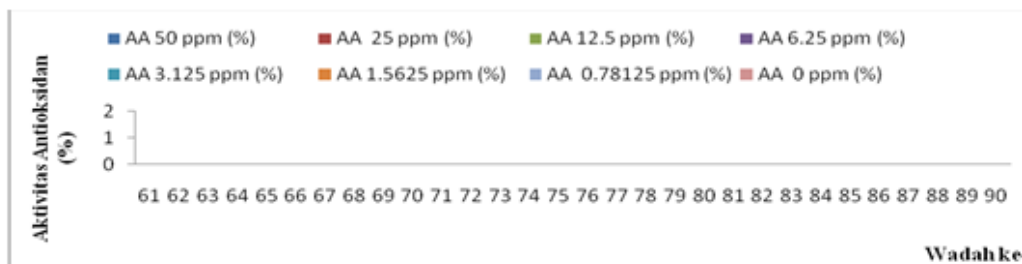
diperoleh eluat yang dalam satu kali *running* dapat ditampung menjadi 90 *tube*. Selanjutnya eluat pada seluruh *tube* diuapkan dengan *rotary vacuum evaporator*. Rendemen yang dihasilkan pada tiap *tube*, diuji aktivitas antioksidannya dengan metode DPPH. Hasil uji aktivitas antioksidan pada *tube* 1-90 dapat dilihat pada Gambar 6-9.



Gambar 6. Hasil uji aktivitas antioksidan pada eluat tube 1-30



Gambar 7. Hasil uji aktivitas antioksidan pada eluat tube 31-60



Gambar 8. Hasil uji aktivitas antioksidan pada eluat tube 61-90



Gambar 9. Hasil perhitungan akhir uji aktivitas antioksidan pada eluat tube 1-90

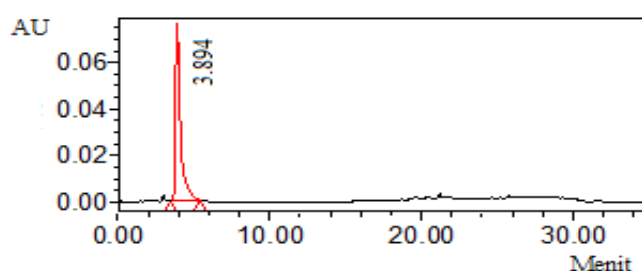
Dari hasil uji aktivitas antioksidan diperoleh data bahwa isolat pada tube ke-11, 12, 13 dan 14 memiliki aktivitas antioksidan yang sama dan paling tinggi

yaitu 4,46 ppm. Selanjutnya terhadap tube ke-11-14 dilakukan uji KLT. Hasil uji menunjukkan bahwa pada tube ke-11-14 terdapat 1 noda. Selanjutnya terhadap

isolat dilakukan proses kristalisasi dan rekristalisasi. Isolat ini selanjutnya disebut sebagai Senyawa Antioksidan dari Koro Benguk dan Produk Tempenya (SABT).

**Identifikasi Senyawa Kimia dengan metode HPLC dan LC-MS(ESI)**

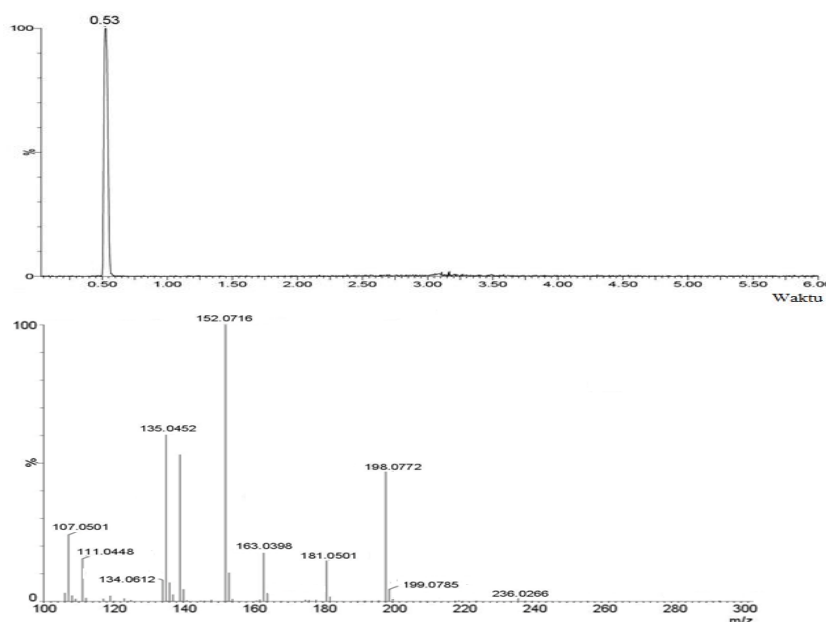
Selanjutnya terhadap SABT dilakukan identifikasi dengan metode HPLC dan LC-MS(ESI) yang hasilnya dapat dilihat pada Gambar 10 dan 11. Hasil uji HPLC menunjukkan bahwa SABT memiliki 1 puncak yaitu pada waktu retensi 3,894.



Gambar 10. Kromatogram HPLC dari SABT

Hasil uji LC-MS menunjukkan adanya 1 puncak pada Kromatogram LC dengan waktu retensi 0,53 menit. Puncak tersebut memberikan puncak spektrogram-massa pada m/z 198,0772. Harga puncak tersebut

merupakan harga  $[M+H]^+$ . Harga m/z senyawa standar L-Dopa adalah 197,0772, yang berarti berat molekulnya sebesar 197,08. Pola fragmentasi dari SABT dapat dilihat pada Tabel 1.



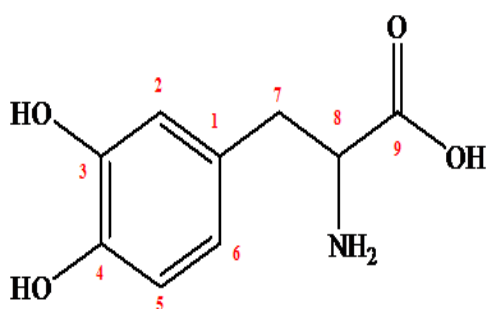
Gambar 11. Kromatogram LC dari SABT (atas) dan Spektrogram-Massa dari SABT (bawah)

Hasil identifikasi secara keseluruhan dan setelah dibandingkan dengan hasil identifikasi dengan senyawa standar L-Dopa, merujuk pada satu kesimpulan bahwa SABT adalah senyawa L-Dopa. Struktur L-Dopa dapat dilihat pada Gambar 12. L-Dopa berbentuk serbuk putih, rumus molekul  $C_9H_{11}NO_4$ , berat molekul 197,08 g/mol dan titik leleh  $276^{\circ}C$ . L-Dopa

merupakan senyawa prekursor dopamin yaitu, senyawa neurotransmitter yang berfungsi menyampaikan pesan dari satu syaraf menuju syaraf berikutnya. L-Dopa berkhasiat sebagai obat antiparkinson dan bersifat afrodisiak (peningkat gairah seksual), sehingga permintaan maupun harga pasarnya relatif tinggi [8,9]

Tabel 1. Pola fragmentasi dari SABT dan standar L-Dopa

Senyawa	Fragmentasi (m/z)
SABT	107, 111, 135, 152,162, 181, 198[M+H] <sup>+</sup>
Standar L-Dopa	107, 111, 135, 152,162, 181, 198[M+H] <sup>+</sup>



Gambar 12. Struktur L-Dopa

#### Hasil Uji Aktivitas Antioksidan terhadap Isolat L-Dopa dan Asam Askorbat sebagai Pembanding

Hasil uji aktivitas antioksidan terhadap Isolat L-Dopa dan asam askorbat sebagai pembanding dapat dilihat pada Tabel 2. Isolat L-Dopa memiliki aktivitas antioksidan ( $IC_{50}$ ) sebesar 4,46 ppm. L-Dopa memiliki aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan asam askorbat ( $IC_{50} = 5,26$  ppm) sebagai antioksidan pembanding. Hal ini menunjukkan bahwa isolat L-Dopa bersifat sebagai antioksidan yang sangat baik.

Tabel 2. Data aktivitas antioksidan,  $IC_{50}$  (ppm) isolat L-Dopa dan asam askorbat

Sampel	Aktivitas antioksidan, $IC_{50}$ (ppm)			Rata-rata	Standar deviasi	RSD (%)
	1	2	3			
Isolat L-Dopa	4,46	4,45	4,46	4,46 <sup>a</sup>	0,01	0,13
Asam askorbat	5,25	5,27	5,25	5,26 <sup>b</sup>	0,01	0,22

Dalam kolom, angka yang diikuti huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan Uji Duncan 5 %

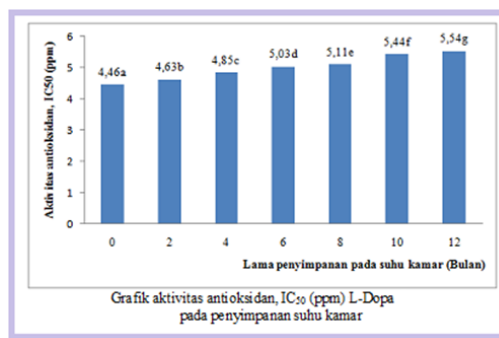
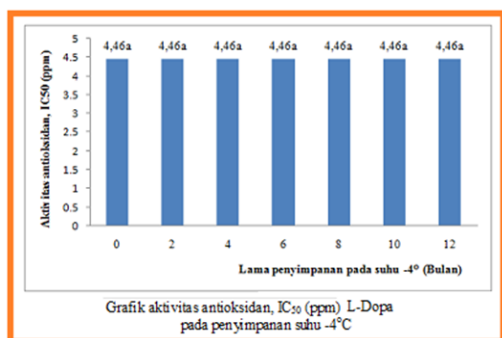
#### Stabilitas Aktivitas Antioksidan Isolat L-Dopa pada Penyimpanan Suhu $-4^{\circ}C$ dan Suhu Kamar Selama 12 Bulan

Salah satu parameter bahwa antioksidan tersebut berkualitas dapat dilihat dari nilai aktivitas antioksidannya. Untuk itu akan diteliti lebih lanjut tentang pengaruh suhu ( $-4^{\circ}C$  dan suhu kamar) dan waktu



penyimpanan terhadap aktivitas antioksidan isolat L-Dopa. Berikutnya dilakukan pengujian stabilitas aktivitas antioksidan isolat L-Dopa pada penyimpanan selama 12 bulan. Hasilnya menunjukkan bahwa pada suhu -4 °C, aktivitas antioksidan isolat

L-Dopa cenderung stabil. Pada penyimpanan suhu kamar, isolat L-Dopa menunjukkan penurunan aktivitas antioksidan sebesar 7,18% (dari IC<sub>50</sub> = 4,46 ppm menjadi IC<sub>50</sub> = 4,78 ppm) (Gambar 13).



Gambar 13. Grafik stabilitas isolat L-Dopa pada penyimpanan suhu -4°C dan suhu kamar

Dari hasil uji analisa kuantitatif menunjukkan bahwa ekstrak etanol koro benguk pra-fermentasi (EEKBPF) mengandung L-Dopa sebesar 40,20%. EEKBPF juga merupakan ekstrak yang menghasilkan kadar L-Dopa paling tinggi diantara seluruh ekstrak etanol dari koro benguk dan produk tempenya [10].

Saat ini di pasaran sudah ada produk L-Dopa dari koro benguk, tetapi belum ada satupun produk buatan Indonesia. Salah satu contoh adalah produk L Dopa yang merupakan *Nootropics* (suplemen dan herbal yang bermanfaat meningkatkan fokus, energi, mood dan memori) yang diproduksi oleh *Supplement Logistics* LLC Arizona USA. Produk tersebut diklaim berkhasiat untuk meningkatkan gairah seksual, stamina, mood, mengurangi stress, membantu pertumbuhan otot dan mempercepat metabolisme [11].

Apabila proses produksi dan pemasaran suplemen kesehatan jenis antioksidan alami ini dapat terealisasi, maka diperlukan penyediaan bahan bakunya secara kontinu. Stok bahan baku yang berkualitas harus selalu ada apabila setiap saat diperlukan untuk proses produksi. Hal ini tentu saja akan membuka peluang bisnis baru dari hulu ke hilir. Koro benguk layak dipertimbangkan sebagai tanaman prospektif dan bernilai ekonomis.

**KESIMPULAN**

Kesimpulan dari penelitian ini adalah:

1. Ekstrak etanol koro benguk pra-fermentasi (EEKBPF) adalah ekstrak dengan aktivitas antioksidan paling tinggi.
2. EEKBPF mengandung L-Dopa sebagai senyawa dengan aktivitas antioksidan paling tinggi.
3. L-Dopa berbentuk serbuk putih, BM 197,08 g/mol dan titik leleh 276°C.

4. Aktivitas antioksidan isolat L-Dopa ( $IC_{50}$  =4,46 ppm) lebih tinggi dibanding asam askorbat ( $IC_{50}$ =5,26 ppm) sebagai antioksidan pembanding.
5. Terdapat pengaruh suhu dan waktu penyimpanan dari isolat L-Dopa terhadap aktivitas antioksidannya.

#### DAFTAR RUJUKAN

- [1] Nursalim, A., 2020, *Negara-Negara ini Mulai Menjalani New Normal*, <http://www.akselaran.co.id>, Diakses pada tanggal 16 Agustus 2020.
- [2] Yulianti, N., 2009, *A to Z Food Supplement*, Penerbit Andi, Yogyakarta.
- [3] Kumalaningsih, S., 2007, *Antioksidan, Sumber dan Manfaatnya*, <http://www.antioxidantcentre.com>. Diakses Pada Tanggal 2 Januari 2011.
- [4] Winarsi, H., 2007, *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*, Penerbit Kanisius, Yogyakarta.
- [5] Handajani, S., 2001, Indigenous Mucuna Tempe as Functional Food, *Asia Pacific Journal Clinical Nutrition*, 10, 3, 222–225.
- [6] Avisena, 2009, *Potensi Tinggi dari Mucuna, si Tumbuhan yang Terabaikan*, <http://tanijaya.com>, Diakses Pada Tanggal 11 Agustus 2016.
- [7] USP, 2007, *Residual Solvents*, <https://www.mc.usp.org>, Diakses Pada Tanggal 30 Januari 2014.
- [8] Emborg, M.E., 2006. Evaluation of animal modelsof Parkinson’s disease for neuroprotectivestrategies, *J. Neuro Sci. Methods*, 139, 121–143.
- [9] Vadivel, V., and Janardhanan, N.K., 2000, Nutritional and Anti Nutritional Compotition of Velvet Bean : an Under Utilized Food Legume In South India, *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 51, 279-287.
- [10] Ariani, S.R.D., Matsjeh, S., Mustofa, and Purwono, B., 2016, Quantitative Analysis of L-Dopa (L-3,4-Dihydroxyphenylalanine) Content in Extracts of Various Products from Velvet Bean (*Mucuna pruriens* (L.) DC.) Tempe Processing, *Oriental Journal of Chemistry*, 32 (6), 2921-2927.
- [11] Soho, 2020, *Nootropics Vitalitas*, <https://www.tokopedia.com/sohoelectron/ic/l-dopa-levodopa-mucuna-10-gram-powder-mood-libido-nootropics>, Diakses pada tanggal 16 Agustus 2020.