

**PENGARUH METODE DAN VARIASI PELARUT EKSTRAKSI TERHADAP
KADAR POLIFENOLAT BUNGA KECOMBRANG
(*Etligeria elatior* (Jack) R.M.Sm)**

Tresna Lestari, Ira Rahmiyani, Siti Munawaroh
Prodi S1 Farmasi STIKes BTH Tasikmalaya

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian mengenai pengaruh perbedaan metode ekstraksi terhadap kadar polifenol total atau *total phenolic content* (TPC). Pada penelitian ini, bunga kecombrang (*Etligeria elatior* (Jack) R.M.Sm) diekstraksi dengan dua metode yaitu maserasi dan refluks. Nilai TPC ditetapkan secara spektrofotometri menggunakan pereaksi Folin-Ciocalteu (FC) dan dihitung sebagai GAE (*Galiic acid equivalent*) yaitu jumlah kesetaraan gram asam galat dalam 100 gram ekstrak. Hasil penelitian menunjukkan bahwa nilai TPC dengan metode maserasi (0,905g GAE/100g ekstrak) dan metode refluks (1,058g GAE/100g ekstrak) memberikan perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$) terhadap kadar fenol total.

Kata kunci: Bunga kecombrang (*Etligeria elatior* (Jack) R.M.Sm), polifenol, maserasi, refluks, Folin-Ciocalteu.

PENDAHULUAN

Banyak tumbuhan rempah-rempah yang mengandung golongan senyawa kimia seperti polifenol yang memiliki sifat sebagai antioksidan dan antibakteri. Fenolik merupakan senyawa yang banyak ditemukan pada tumbuhan. Fenolik memiliki cincin aromatik dengan satu atau lebih gugus hidroksil (OH) dan gugus-gugus lain penyertanya. Senyawa ini diberi nama berdasarkan nama senyawa induknya, fenol. Senyawa fenolik kebanyakan memiliki gugus hidroksil lebih dari satu sehingga disebut polifenol (Hardiyansyah Erik, 2010).

Kecombrang (*Etligeria elatior*) adalah salah satu jenis tumbuhan rempah yang termasuk suku zingiberaceae. Kecombrang mengandung minyak atsiri, saponin, flavonoid, dan polifenol yang dikenal sebagai deodoran alami yang dapat mengurangi bau badan. Bunga

kecombrang juga mempunyai aktivitas antioksidan (Anonim, 2010).

Bunga kecombrang diketahui memiliki kandungan lemak yang sangat tinggi. Lemak dan minyak lainnya yang memiliki ukuran besar tidak dapat masuk ke dalam dinding sel dan menjadi penghalang masuknya polifenol maupun minyak atsiri ke dalam sel. Proses pengurangan kandungan lemak dan minyak tersebut dapat dilakukan dahulu kemudian diekstraksi dengan pelarut polar (Jenie; Kusnandar; Naufali; Rukmini; Sudarwanto, 2005).

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan dengan ekstraksi cara maserasi diketahui bunga kecombrang memiliki nilai total fenol pada fraksi etil asetat berkisar antara 0,5221-1,7761% dan untuk fraksi etanol berkisar antara 0,8541-4,8513% (Rifda; H. S. Rukmini, 2010). Penelitian lain yang dilakukan dengan ekstraksi cara

refluks menyebutkan kadar senyawa fenolik total menunjukkan ekstrak metanol mengandung senyawa fenolik lebih tinggi dibanding ekstrak etil asetat dengan nilai masing-masing 35,00% untuk ekstrak metanol dan 5,92% untuk ekstrak etil asetat (Lestari T; Ruswanto, 2013).

Berdasarkan uraian tersebut maka peneliti tertarik untuk melakukan penelitian mengenai pengaruh perbedaan metode ekstraksi dengan variasi pelarut terhadap kadar kandungan senyawa polifenolat pada ekstrak bunga kecombrang.

BAHAN DAN METODE

ALAT

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya alat refluks, maserator, *rotary evaporator* (IKA HB 10), mikroskop, tabung reaksi, gelas kimia, kuvet, dan spektrofotometri UV-Vis (Genesys 10).

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan yaitu sampel bunga kecombrang, pelarut n-heksan, metanol, reagen skrining fitokimia, natrium karbonat 7,5% b/v, reagen Folin-Ciocalteu, dan asam galat.

METODE

Pemeriksaan Karakteristik Mutu

Simplisia

Pemeriksaan karakteristik mutu simplisia dilakukan terhadap simplisia

bunga kecombrang yang meliputi pemeriksaan makroskopik, mikroskopik, penetapan kadar air, kadar abu total, kadar abu larut air, kadar abu tidak larut asam, susut pengeringan, kadar sari larut air, kadar sari larut etanol.

Skrining Fitokimia

Skrining atau penapisan fitokimia yang dilakukan meliputi pemeriksaan golongan senyawa alkaloid, flavonoid, tanin-polifenol, monoterpenoid-seskuiterpenoid, steroid-triterpenoid, kuinon, dan saponin. Pemeriksaan skrining fitokimia dilakukan terhadap simplisia dan ekstrak bunga kecombrang.

Ekstraksi

Proses ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi dan refluks. Bubuk bunga kecombrang diekstraksi terlebih dahulu dengan n-heksan. Residu diekstraksi kembali dengan metanol. Filtrat diuapkan pelarutnya dengan menggunakan rotavapor. Ekstrak yang diperoleh digunakan sebagai sampel untuk pengujian total fenol.

Penetapan total phenolic content (TPC)

Penetapan *total phenolic content* (TPC) dari ekstrak etanol, metanol, dan asam asetat diperiksa dengan metode Folin-Ciocalteu. Sebanyak 300 µl sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi, tambahkan 4 mL reagen Folin - Ciocalteu dan 5 mL natrium karbonat 7,5% b/v. Campuran didiamkan selama 52 menit

pada suhu kamar, kemudian periksa absorbansi campuran pada panjang gelombang 750 nm. TPC merupakan kadar senyawa fenolik dalam suatu bahan yang dinyatakan dalam gram (g) ekuivalen asam galat (GAE) per 100 gram ekstrak. Nilai TPC ekstrak dinyatakan ekuivalen dengan asam galat yang digunakan sebagai pembanding untuk pembuat kurva baku (Chan., at al. 2008).

Analisis Data

Analisis data dilakukan dengan metode statistik non parametrik. Analisis data dilakukan dengan uji *Kruskal-Wallis* dan *Mann-Whitney*. Metode statistik ini untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan yang bermakna antara metode ekstraksi terhadap kadar polifenolat ekstrak bunga kecombrang.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penyiapan Bahan

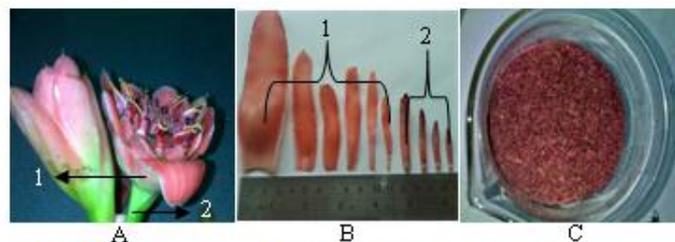
Sampel bunga kecombrang diperoleh dari daerah Ciamis sebanyak 4kg. Bunga kecombrang disortasi kering

untuk memisahkan sampel bunga kecombrang dari pengotor. Kemudian dilakukan pencucian, sortasi basah, perajangan, pengeringan, dan pembuatan serbuk simplisia. Pengeringan simplisia dilakukan dengan cara pemanasan menggunakan oven dengan suhu pemanasan 40-50 °C.

Pemeriksaan Karakteristik Mutu

Simplisia

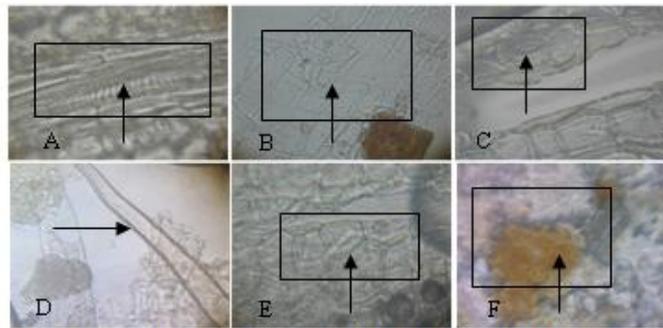
Hasil pemeriksaan makroskopik menunjukkan simplisia bunga kecombrang berwarna merah muda sampai merah, berbau khas, rasa sedikit asam, memiliki tangkai bunga berbentuk panjang dan keras, dasar bunga berbentuk bonggol, mahkota bunga berbentuk terompet, kepala putik berbentuk segitiga panjang, dan biji bunga berwarna merah sampai coklat dan diselubungi salut biji (*arilus*) berwarna putih bening atau merah muda. Dari hasil pengolahan, diperoleh serbuk simplisia 950 gram. Serbuk berwarna merah, barbau khas, dan memiliki rasa sedikit asam.



Gambar 1. Bentuk makroskopik bunga kecombrang. A. Bunga kecombrang (1) Dasar bunga, (2)Tangkai bunga. B.(1) Mahkota bunga, (2) Biji bunga. C. Serbuk bunga

Hasil pemeriksaan mikroskopik terhadap serbuk bunga kecombrang menunjukkan bahwa pada bunga kecombrang terdapat fragmen kelenjar

minyak, rambut penutup, kolenkim, epidermis, epidermis dengan stomata, seperti yang terlihat pada gambar 2.



Gambar 2. Bentuk mikroskopik bunga kecombrang. A. Berkas pengangkut dengan penebalan bentuk tangga, B. Epidermis perhiasan bunga, C. Epidermis dengan stomata, D. Rambut penutup, E. Kolenkim, F. Kelenjar minyak

Hasil pemeriksaan mutu simplisia yang dilakukan meliputi penetapan kadar air, kadar abu total, kadar abu larut air, kadar abu tidak larut asam, kadar sari larut

air, kadar sari larut etanol, dan susut pengeringan. Hasil dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil Pemeriksaan Karakteristik Mutu Simplisia

Karakteristik Mutu Simplisia	Hasil (%)
Kadar air	3,331
Kadar abu total	12,26
Kadar abu larut air	9,25
Kadar abu tidak larut asam	1,53
Kadar sari larut air	22,4
Kadar sari larut etanol	12,37
Susut pengeringan	7,92

Skrining Fitokimia

Skirining fitokimia dilakukan terhadap simplisia dan ekstrak bunga

kecombrang. Hasil dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil Skrining Fitokimia simplisia dan ekstrak bunga kecombrang

Golongan Senyawa kimia	Hasil Pemeriksaan						
	S	AM	AR	EM	ER	MM	MR
Alkaloid	+	-	-	-	-	-	-
Flavonoid	+	+	+	+	+	+	+
Polifenol	+	+	+	+	+	+	+
Tanin	-	-	-	-	-	-	-
Steroid-triterpenoid	-	-	-	-	-	-	-
Monoterpenoid-seskuiterpenoid	+	+	+	+	+	+	+
Saponin	-	-	-	-	-	-	-
Kuinon	+	+	+	+	+	+	+

Keterangan : + : positif, - : negative
 S : Simplisia bunga kecombrang,
 AM : Ekstrak asam asetat maserasi, AR : Ekstrak asam asetat refluks,
 ER : Ekstrak etanol maserasi, ER : Ekstrak etanol refluks,
 MM : Ekstrak metanol maserasi, MR : Ekstrak metanol refluks

Ekstraksi

Ekstraksi dilakukan dengan dua metode yaitu maserasi dan refluks dengan menggunakan tiga macam pelarut yaitu asam asetat, etanol, dan metanol. Sebelum dilakukan ekstraksi dengan pelarut tersebut dilakukan terlebih dahulu ekstraksi menggunakan pelarut n-heksan. Hal ini dilakukan karena diketahui bunga

kecombrang mengandung minyak atsiri yang cukup tinggi, karena jika terdapat minyak dapat mengganggu pada proses ekstraksi senyawa polifenol dimana senyawa tersebut bersifat polar. Hasil ekstrak yang diperoleh dihitung rendemennya. Nilai rendemen dari masing – masing ekstrak dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Hasil Rendemen Ekstrak

Ekstrak	Rendemen ekstrak (%)
Maserasi	6.321
Refluks	14.081

Penetapan *Total Phenolic Content* (TPC)

Untuk penetapan TPC terlebih dahulu ditetapkan panjang gelombang maksimum untuk pengujian. Berdasarkan hasil pengukuran spektrofotometri UV-Visibel, kompleks asam galat dengan reagen Folin-Ciocalteu memberikan serapan maksimum pada panjang gelombang 750 nm. Panjang gelombang ini selanjutnya digunakan untuk penetapan kadar polifenol dalam sampel.

Penetapan *total phenolic content* (TPC) dilakukan terhadap ekstrak asam asetat, etanol, dan metanol bunga kecombrang menggunakan metode refluks, dan maserasi. Senyawa pembanding yang digunakan yaitu asam galat dengan konsentrasi 5, 60, 70, 80, 90, dan 100 ppm. Asam galat digunakan

sebagai pembanding karena termasuk senyawa fenol yang bersifat stabil (Prita Belinda, 2011).

Penetapan kandungan fenol total secara spektrofotometri UV-Vis dengan reagen Folin Ciocalteu berdasarkan reaksi reduksi-oksidasi. Reagen Folin Ciocalteu (*molybdotungstate*) mengoksidasi gugus hidroksil (OH⁻) dari senyawa golongan fenol membentuk kompleks senyawa berwarna biru. Reaksi ini berjalan lambat pada suasana asam sehingga pada pengujian ditambahkan natrium karbonat untuk membentuk suasana basa dan reaksi dapat berjalan lebih cepat (Agustiningsih, 2010). Hasil perhitungan diperoleh persamaan kurva baku pembanding asam galat $y = 0,0079x - 0,134$ dan $r = 0,997$. Hasil penetapan kadar polifenol total dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Hasil Penetapan *Total Phenolic Content* (TPC)

Sampel	Absorbansi rata-rata sampel	x rata-rata (µg/ml)	Kadar TPC rata-rata (g GAE/100 g ekstrak)
Maserasi	0.339	59.873	1.114
Refluks	0.467	76.034	1.414

Analisis Data

Pengolahan data menggunakan program komputer *SPSS for Windows* versi 18.0 dengan metode statistik. Data yang diperoleh diuji normalitas dan homogenitas terlebih dahulu. Berdasarkan data yang diperoleh dari uji normalitas dengan *Shapiro-wilk* menunjukkan data tidak berdistribusi normal dan untuk uji homogenitas menunjukkan data tidak homogen, maka dilakukan uji *Mann-Whitney* untuk

mengetahui pengaruh metode ekstraksi terhadap kadar polifenol.

Hasil statistik menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna antara metode ekstraksi maserasi dengan refluks terhadap kadar polifenol, hal ini berarti pemilihan metode ekstraksi dapat mempengaruhi kadar polifenol dimana polifenol yang diperoleh dari ekstraksi cara refluks lebih tinggi kadarnya dan berbeda secara signifikan dibandingkan dengan cara maserasi.

Tabel 5. Hasil Analisis Statistik Metode Ekstraksi Uji *Mann-Whitney*

Metode ekstraksi terhadap kadar	<i>Asymp. Sig. (2-tailed)</i>	Kesimpulan
Maserasi dengan refluks	0,047	Ada perbedaan bermakna

Pengolahan data pengaruh pelarut ekstraksi terhadap kadar polifenol menggunakan uji *Kruskal-Wallis*, untuk melihat adanya perbedaan pada seluruh kelompok perlakuan. Berdasarkan hasil uji dengan *Kruskal-Wallis* diperoleh nilai *Asymp. Sig* < 0,05 yaitu 0,003 maka

terdapat perbedaan bermakna antara penggunaan variasi pelarut ekstraksi terhadap kadar polifenol. Kemudian dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney* untuk mengetahui besarnya perbedaan masing-masing kelompok perlakuan.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa :

1. Kadar polifenol pada ekstrak yang diperoleh dengan cara maserasi (0,905g GAE/100g ekstrak) menghasilkan nilai yang lebih kecil dibandingkan dengan ekstrak yang

diperoleh dengan cara refluks (1,058g GAE/100g ekstrak) dan memberikan nilai signifikansi yang bermakna secara statistik.

Saran

Diasarankan untuk melakukan penelitian lebih lanjut mengenai identifikasi, isolasi, dan uji aktivitas dari senyawa polifenol pada bunga kecombrang.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustiningsih., A. Wildan., Mindaningsih. 2010. Optimasi Cairan Penyari Pada Pembuatan Ekstrak Daun Pandan Wangi (*Pandanus amaryllifous Roxb*) Secara Maserasi Terhadap Kadar Fenolik Dan Flavonoid Total. *Momentum vol 6, No2*, 36-41; Semarang.
- Andrianto S., A. Ayucitra, N. Indraswati., dan Y. Sulistyani. 2011. Ekstraksi Senyawa Fenolik Dari Limbah Kulit Kacang Tanah (*Arachis hypogea* L) Sebagai Antioksidan Alami. *Jurnal Teknik Kimia Indonesia Vol. 10, No 3*, 112-119; Surabaya.
- Belinda P. 2011. *Studi Reaksi Esterifikasi Antara Asam Galat Dan Gliserol Dengan Menggunakan Gelombang Mikro* [Skripsi]. Depok: Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Program Reguler Kimia UI.
- Chan, E.W.C, Y.Y. Lim dan M. omar. 2007. Antioxidant and Antibacterial Activity of Leaves of *Etilingera* species (Zingiberaceae) in Peninsular Malaysia. *Food Chemistry*. Vol. 104: 1586-1593.
- Chan E. W. G., Lim, Y. Y., Wong, L. F., Lianto, F. S., Wong, S. K., *et al.*, 2008. Antioxidant and Tyrosinase Inhibition Properties of Leaves and Rhizomes of Ginger Species. *Food Chemistry* 109 : 477-483.
- Djuki, M. I. 2005. *Bunga Kecombrang, Deodoran Alami dan Antimikroba* [Online], (<http://www.suaramerdeka.com/cybernews/harian>). diakses tanggal 04 Februari 2014).
- Dwiatmini; Kartikaningrum; Sulyo. 2009. Induksi Mutasi Kecombrang (*Etilingera elatior*) Menggunakan Iradiasi Sinar Gamma. *J. Hort.* 19(1): 1-5.
- Gandjar I.G, R. Abdul. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Harbone J. B. 1987. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Bandung: ITB.
- Hudayana Adeng. 2010. *Uji Antioksidan dan Antibakteri Ekstrak Air Bunga Kecombrang (Etilingera elatior) sebagai Pangan Fungsional terhadap Staphylococcus aureus dan Escherichia coli* [Skripsi]. Jakarta: Program Studi Biologi

- Fakultas Sains dan Teknologi UIN
Syarif Hidayatullah.
- Jenie, K Feri, N Rifda, R Herastuti, S
Mirnawati. 2005. Aktivitas
Antibakteri Ekstrak Bunga
Kecombrang Terhadap Bakteri
Patogen Dan Perusak Pangan.
Teknologi dan Industri Pangan: 16(2):
119-120.
- Kar, Ashutosh. 2013. *Farmakognosi dan
Farmakobioteknologi volume 1 dan
2*. Kedokteran EGC; Jakarta.
- Katja Dewa G, S Edi, W Frenly. 2009.
Potensi Daun Alpuket (*Persea
Americana Mill*) Sebagai Sumber
Antioksidan Alami. *Chem Prog*:
2(1): 59-60.
- Lestari T., Ruswanto. 2013. *Fitokimia
Total Phenolic Content dan
Sitotoksik Ekstrak dan Minyak
Atsiri Bunga Kecombrang
(Etilingera elatior)*. Tasikmalaya:
STIKes BTH.
- Naufalin Rifda., R. Herastuti Sri. 2010.
*Potensi Antioksidan Hasil Ekstraksi
Tanaman Kecombrang (Nicolaia
speciosa Horan) Selama
Penyimpanan*. Purwakerto:
UNSOED.
- Robinson T. 1995. *Kandungan Organik
Tumbuhan Tinggi*. Bandung: ITB.
- Santoso, Singgih. 2014. *Panduan Lengkap
SPSS Versi 20 Edisi Revisi*. Elex
Media Komputindo Kompas
Gramedia; Jakarta.