

ANALISIS TOTAL FENOL FRAKSI ETIL ASETAT DAN RESIDU HASIL PARTISI EKSTRAK ETANOL DAUN TUMBUHAN KAEMBU-EMBU (*Blumea balsamifera* L.)

Abdul Halim¹, Nurlansi² dan Nasrudin²

¹ Mahasiswa Jurusan Pendidikan Kimia FKIP UHO, ² Dosen Jurusan Pendidikan Kimia FKIP UHO

Email : abdulhalim191997@gmail.com

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian analisis total fenol fraksi etil asetat dan residu (fraksi air) hasil partisi ekstrak etanol daun tumbuhan kaembu-embu (*Blumea balsamifera*). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui total fenolik fraksi etil asetat dan residu (fraksi air) daun kaembu-embu yang diperoleh dari hasil partisi yang dinyatakan sebagai gram ekivalen asam galat atau biasa disebut Galat Acid Equivalent (GAE). Sampel yang digunakan sebanyak 500 gram serbuk daun kaembu-embu diekstraksi menggunakan pelarut etanol teknis. Ekstraksi dilakukan menggunakan metode maserasi dengan etanol selama 5x24 jam. Dari hasil evaporasi diperoleh rendemen ekstrak etanol sebanyak 80.9 gram atau 16.18 %. Selanjutnya ditimbang sebanyak 10 gram ekstrak etanol lalu dipartisi menggunakan n-heksan-etanol (1:1) sampai lapisan n-heksan tidak berwarna, sehingga diperoleh fraksi n-heksan dan fraksi etanol. Fraksi etanol dipartisi kembali dengan menggunakan pelarut etil asetat-air sampai lapisan etil asetat tidak berwarna. Diperoleh fraksi etil asetat dan residu (fraksi air) masing-masing 2.5 gram dan 3.15 gram. Analisis total fenol terhadap fraksi etil asetat dan residu (fraksi air) hasil partisi tersebut dilakukan dengan menggunakan metode Folin-Ciocalteu. Hasil analisis total fenol menunjukkan bahwa total fenolik fraksi etil asetat sebesar 4.39 mg GAE/g sedangkan residu (fraksi air) sebesar 3.73 mg GAE/g.

Kata Kunci : Total Fenolik, Fraksi Etil Asetat, Fraksi Air, *Blumea balsamifera*

PENDAHULUAN

Pengobatan tradisional menggunakan bahan tumbuhan seperti daun, akar kulit batang ataupun buah, telah banyak dikenal. Penggunaan tumbuhan obat telah dilakukan sejak abad-abad permulaan, antara lain seperti pengobatan tradisional dari India (Ayurveda), telah dikenal sejak 1500 tahun SM. Pengobatan ShanNung (Cina), dan dari Jepang pengobatan yang menggunakan tumbuhan disebut dengan pengobatan "kampo". Penggunaan bahan tumbuhan untuk tujuan pengobatan seperti ini di Indonesia umumnya dikenal dengan nama jamu (Jawa), dan untuk di Sulawesi Tenggara dikenal dengan nama "Lansau" adalah nama lokal ramuan obat tradisional suku Muna dan Buton. Sasaran pengobatan tidak tertuju pada salah satu bagian tubuh tertentu yang sakit

melainkan berpengaruh pada berbagai bagian tubuh yang mengalami gangguan metabolisme sel.

Salah satu jenis tumbuhan yang digunakan sebagai obat tradisional adalah tumbuhan kaembu-embu dengan nama latin *Blumea balsamifera* L. Tumbuhan tersebut merupakan jenis tumbuhan perdu yang banyak tumbuh di wilayah Pulau Muna Barat, Sulawesi Tenggara, memiliki daun yang berwarna hijau pucat sampai hijau tua, batang hijau tua tegak bulat, memiliki bunga serta berbau aromatis. Tumbuhan kaembu-embu memiliki daya pertumbuhan yang cepat dan dapat diperbanyak dengan cara dikembangbiakan dengan biji. Menurut Setyo S. (2016), bagian tumbuhan kaembu-embu (*Blumea balsamifera*) yang paling sering digunakan untuk pengobatan adalah daun.

Masyarakat Indonesia umumnya memanfaatkan daun *Blumea balsamifera* sebagai anti radang, memperlancar pengeluaran gas (karminatif), memperlancar peredaran darah, mematikan pertumbuhan kuman (bakterisidal), memperlancar pengeluaran keringat (diforetik), menghangatkan badan, dan mengencerkan dahak (ekspektoran) (Mursito, 2002). Dan menurut (Dalimartha, 1999) daun tumbuhan tersebut digunakan untuk mengatasi influenza, rematik, nyeri haid, haid tidak teratur, demam, asma, batuk, bronchitis, perut kembung, diare, dan diabetes. Sedangkan di Filipina daun *Blumea balsamifera* dimanfaatkan sebagai diuretik (Apaya, 2011).

Di Kabupaten Muna Barat, daun tumbuhan kaembu-embu secara turun-temurun dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai obat tradisional pasca ibu melahirkan, juga digunakan untuk mengobati berbagai macam penyakit seperti sariawan, demam, nyeri haid, pegal-pegal, panas dalam serta obat untuk cacang. Dari hasil penelitian juga dilaporkan bahwa daun sembung memiliki khasiat sebagai anti radang, memperlancar peredaran darah, dan menghangatkan badan (Norikura et al, 2008; Sakee et al, 2011).

Dari beberapa penelitian kandungan senyawa metabolit sekunder daun *Blumea balsamifera* tersebut, terlihat adanya senyawa golongan fenol seperti senyawa flavonoid dan tanin. Senyawa fenolik merupakan salah satu golongan senyawa yang memberikan efek yang lebih besar terhadap khasiat suatu tanaman sebagai obat. Senyawa ini diberi nama berdasarkan nama senyawa induknya yaitu fenol. Fenolik memiliki cincin aromatik satu dan berikatan dengan satu atau lebih gugus hidroksil (OH) dan gugus-gugus lain penyertainya. Banyak senyawa fenolik alam telah diketahui strukturnya, antara lain flavonoid, fenol monosiklik, fenolik sederhana, polifenol (lignin, melanin, tannin), dan kuinon (Veberic, 2010). Senyawa-senyawa fenolik tersebut diketahui memiliki sifat antibakteri dan antimikroba terhadap beberapa bakteri

pathogen dan bakteri karsinogenik serta dapat digunakan sebagai bahan pengawet dan aplikasi peptisida (Mashuni dkk., 2017). Hal ini diperkuat dari hasil penelitian beberapa jenis tanaman yang mengandung senyawa fenol dilaporkan memiliki aktivitas farmokologi diantaranya bersifat antioksidan (Muharni, 2009).

Penetapan kandungan total fenol dapat dilakukan dengan menggunakan metode Folin-Ciocalteu. Pemilihan metode Folin-Ciocalteu karena metode ini sederhana, cepat murah namun memiliki reliabilitas yang tinggi. Reagen Folin-Ciocalteu merupakan oksidator senyawa fenolik didalam sampel untuk menghasilkan kompleks warna biru yang diukur intensitasnya dengan spektrofotometer sinar tampak (Agustiniingsih, et al., 2010). Menurut Prior, et al., (2015), pemilihan standar disesuaikan dengan jenis senyawa fenol di dalam sampel namun asam galat merupakan standar yang direkomendasikan untuk mendapatkan hasil yang reliabel. Asam galat diketahui memiliki reaktivitas yang cukup tinggi terhadap reagen Folin-Ciocalteu dibandingkan dengan senyawa fenolik lainnya sehingga dapat digunakan sebagai standar dalam penetapan kadar total fenol (Everette, et al., 2010).

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah blender, satu set peralatan maserasi, *rotary evaporator*, corong pisah, tabung reaksi, rak tabung, pipet volume 10 mL dan 25 mL, pipet tetes, pipet mikro, gelas ukur 10 mL dan 1000 mL, neraca analitik, filler, corong kaca, batang pengaduk, spatula, labu ukur, gelas kimia 50 mL, erlenmeyer 1000 mL dan 500 mL, spektrofotometer UV-Vis.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah etanol teknis 95%, n-heksan, etil asetat, aquades, aluminium foil, tissue, kertas saring, larutan FeCl_3 , Na_2CO_3 10%, pereaksi Folin-Ciocalteu, dan asam galat.

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun tumbuhan Kaembu-embu (*Blumea balsamifera*) dari Desa Wuna, Kec. Barangka, Muna Barat, Sulawesi Tenggara.

Prosedur Penelitian

Preparasi Sampel

Sampel daun Kaembu-embu (*Blumea balsamifera*) dibersihkan, kemudian di keringkan di udara terbuka pada suhu kamar, serta diangin-anginkan. Setelah kering, sampel dicacah dan dihaluskan dengan menggunakan blender sehingga diperoleh sampel dalam bentuk bubuk atau serbuk. Simplisia lalu dibawa ke Laboratorium Pengembangan Jurusan Pendidikan Kimia FKIP UHO untuk diteliti.

Ekstraksi Sampel

Daun kaembu-embu (*Blumea balsamifera*) yang sudah dihaluskan, ditimbang sebanyak 500 gram dan dimaserasi dengan \pm 2.500 mL (sampai semua sampel terendam) dalam wadah toples selama 24 jam, kemudian disaring dengan corong buncher sehingga diperoleh ampas dan filtrat I. Ampas dimaserasi kembali dengan etanol seperti perlakuan pertama. Pekerjaan dilakukan kembali sebanyak empat kali sehingga diperoleh filtrat 2, 3, 4 dan filtrat 5. Selanjutnya filtrat 1, 2, 3, 4 dan 5 digabungkan menjadi satu, lalu pelarutnya diuapkan atau dikisatkan dengan vakum rotary evaporator sampai semua pelarutnya menguap sehingga diperoleh ekstrak etanol kental, kemudian ditimbang.

Partisi

Sebanyak 10 gram ekstrak etanol pekat dilarutkan etanol 100 mL kemudian dimasukkan ke dalam labu pisah dan ditambahkan dengan n-heksan 100 mL sehingga perbandingan volume kedua pelarut adalah 1:1 (v/v), dikocok sekitar 5 menit agar homogen lalu didiamkan terjadi dua lapisan. Setelah itu lapisan n-heksan dan lapisan

etanol dipisahkan dan disimpan dalam 2 wadah yang berbeda. Lapisan etanol dimasukkan lagi ke dalam labu pisah dan ditambahkan lagi n-heksan yang baru agar kandungan lemak sampel yang masih ada dalam sampel dapat ditarik atau terekstraksi dalam n-heksan dengan demikian lemak yang terkandung dalam sampel tidak mengganggu pemisahan. Lapisan etanol yang telah dipisahkan ditambahkan lagi dengan pelarut air-etil asetat dengan perbandingan 1:2. Dikocok selama 5 menit dan didiamkan sampai terbentuk dua lapisan. Setelah itu lapisan etil asetat dan lapisan air dipisahkan dan disimpan dalam wadah yang berbeda. Lapisan air dimasukkan lagi ke dalam labu pisah dan ditambahkan larutan etil asetat, dikocok, didiamkan lalu dipisahkan seperti pada perlakuan pertama. Lapisan etil asetat yang diperoleh digabungkan dengan lapisan etil asetat perolehan pertama lalu diuapkan menggunakan *Rotatory Vacum Evaporator* sampai diperoleh ekstrak kental yang disebut fraksi etil asetat. Kemudian ditimbang.

Identifikasi Fenol

Masing-masing ekstrak sampel 0,2 g di tambahkan dengan larutan FeCl_3 10%. Hasil akan positif bila ditunjukkan dengan terbentuknya warna hijau, merah, ungu, biru tua, biru, biru kehitaman, atau hijau kehitaman.

Analisis Total fenol

Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Penentuan panjang gelombang maksimum ditentukan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada larutan asam galat 1000 ppm. Larutan asam galat 1000 ppm dipipet sebanyak 0,5 mL lalu ditambahkan 5 mL Reagen Folin-Ciocalteu (1:10 v/v air suling) dan ditambahkan 4 mL natrium karbonat 7,5 %. Campuran diforteks selama 15 detik, selanjutnya dilakukan pengukuran pada panjang gelombang 800 hingga 400 nm.

Penentuan *Operating Time* (OT)

Penentuan *Operating Time* (OT) ditentukan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada larutan asam galat 1000 ppm. Larutan asam galat 1000 ppm dipipet sebanyak 0,5 mL lalu ditambahkan 5 mL Reagen Folin-Ciocalteu (1:10 v/v air suling) dan ditambahkan 4 mL natrium karbonat 7,5 %. Campuran diforteks selama 15 detik, selanjutnya larutan diukur absorbannya pada waktu 10 hingga 40 menit dalam rentang waktu 10 menit dengan panjang gelombang 600 nm.

Pembuatan Kurva Kalibrasi

Larutan standar asam galat dibuat konsentrasi 10, 20, 30, 40, 50 ppm. Larutan standar asam galat disiapkan dengan cara memipet larutan asam galat 100 ppm masing-masing sebanyak 1 mL, 2 mL, 3 mL, 4 mL dan 5 mL. Selanjutnya dimasukan masing-masing kedalam labu takar 10 mL yang berbeda, kemudian ditambahkan masing-masing aquades hingga tanda tera dan dikocok hingga homogen. Dari masing-masing seri konsentrasi larutan asam galat dipipet sebanyak 0,5 mL lalu ditambahkan 5 mL Reagen Folin-Ciocalteu (1:10 v/v air suling) dan ditambahkan 4 mL natrium karbonat 7,5 %. Campuran divorteks selama 15 detik. Kemudian dilakukan pengukuran dengan spektrofotometer sinar tampak pada panjang gelombang maksimum dan pada waktu optimum yang telah didapat dari langkah sebelumnya.

Pengukuran Serapan Sampel

Ekstrak fraksi air dan ekstrak etil asetat, masing-masing ditimbang 100 mg dan kemudian masing-masing dimasukan dalam gelas kimia 50 mL yang berbeda. Selanjutnya, masing-masing ekstrak ditambahkan 0.5 mL etanol p.a dan 2.5 mL aquades sehingga diperoleh 3 mL larutan sampel. Dari kedua larutan tersebut, masing-masing dipipet sebanyak 0,5 mL dan dimasukan dalam dua tabung yang berbeda lalu ditambahkan 5 mL

Reagen Folin-Ciocalteu (1:10 v/v air suling) dan ditambahkan 4 mL natrium karbonat 7,5 %. Campuran divorteks selama 15 detik. Selanjutnya dilakukan pengukuran dengan spektrofotometer pada panjang gelombang maksimum dan waktu optimum untuk pengukuran asam galat. Hasil pengukuran ini dinyatakan sebagai berat setara dengan asam galat tiap berat sampel.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penyiapan Sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian ini yaitu daun kaembu-embu (*Blumea balsamifera*). Daun kaembu-embu diambil dari Muna Barat, sebelum diekstraksi sampel diangin-anginkan pada suhu kamar agar senyawa yang terkandung dalam sampel tidak rusak oleh suhu matahari yang terlalu tinggi. Proses pengeringan bertujuan untuk mengurangi kadar air yang terkandung dalam sampel daun kaembu-embu agar dapat disimpan dalam jangka waktu yang lama, menghentikan reaksi enzimatik sehingga sampel tidak mudah berjamur. Pengurangan kadar air akan memudahkan pelarut untuk menarik senyawa bioaktif sampel saat maserasi (Sudirman *et al.*, 2011). Sampel dihaluskan bertujuan untuk memperbesar luas permukaan sampel agar mempermudah proses penyarian, semakin kecil ukuran sampel maka semakin besar luas permukaannya sehingga interaksi pelarut akan semakin besar, penetrasi pelarut kedalam membran sel akan semakin mudah dan proses ekstraksi akan semakin efektif (Tomayahu, 2014).

Ekstraksi Daun Kaembu-embu (*Blumea balsamifera*)

Jenis ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstraksi maserasi dengan mempertimbangkan maserasi tidak melibatkan suhu tinggi sehingga komponen kimia dalam sampel tidak akan rusak. Pelarut yang digunakan dalam proses maserasi ini adalah etanol. Secara kepolaran methanol

lebih polar dari etanol namun karena sifat toksisitasnya tidak sesuai untuk ekstraksi dengan jenis penelitian tertentu, untuk menghindari kesalahan tersebut maka digunakan etanol. Selain hal tersebut etanol merupakan pelarut *food grade*, etanol lebih mudah untuk menembus membran seluler suatu tanaman pada saat ekstraksi dan etanol tidak seperti air yang merupakan media tumbuhnya mikroorganisme (Wang *et al.*, 2010).

Proses maserasi dilakukan selama 5x24 jam, sampai filtrat yang diperoleh menjadi bening. Perubahan warna ekstrak dari hijau kecoklatan sampai menjadi bening menandakan bahwa kandungan metabolit sekunder yang terdapat pada serbuk daun kaembu-embu telah terekstrak secara optimal. Filtrat yang diperoleh kemudian digabung dan dikisatkan dengan *vacuum rotary evaporator*, penggunaan *rotary* dengan bantuan pompa vakum akan menurunkan tekanan uap pelarut dan pelarut akan menguap dibawah titik didih normalnya, sehingga ekstrak fitokimia tidak rusak akibat suhu berlebih dan proses pemisahan pelarut menjadi lebih singkat (Toyamahu, 2014). Rendemen yang diperoleh adalah 80,9 gram atau 16.18 % ekstrak etanol daun kaembu-embu.

Fraksinasi secara Partisi

Ekstrak etanol kental yang diperoleh kemudian difraksinasi dengan metode partisi menggunakan beberapa pelarut yang berbeda tingkat kepolarannya dan perbedaan pelarut yang digunakan. Partisi dilakukan untuk memisahkan senyawa yang terdapat dalam ekstrak etanol berdasarkan tingkat kepolaran dan perbedaan pelarut dengan menggunakan prinsip *like dissolves likes* sehingga senyawa-senyawa yang bersifat polar akan terpartisi kedalam pelarut etanol, senyawa yang bersifat non polar akan terpartisi kedalam pelarut n-heksan dan senyawa yang bersifat semi polar akan terdistribusi kedalam pelarut air dan etanol.

Ekstrak etanol kental daun kaembu-embu (*Blumea balsamifera*) dipartisi antara pelarut etanol dan n-heksan perbandingan volume 1:1. Dalam partisi tahap awal ini, pelarut etanol dibiarkan konstan dan untuk n-heksan dilakukan sebanyak tujuh kali pengulangan dengan volume n-heksan konstan, sampai pelarut n-heksan bening. Hal ini dimaksudkan agar senyawa metabolit sekunder yang bersifat non polar dapat larut dengan sempurna pada fraksi n-heksan. Karena volume n-heksan yang cukup banyak sehingga memperkecil kemungkinan senyawa non polar masih tertinggal dalam fraksi etanol. Intensitas warna yang ditampilkan pada filtrat n-heksan hasil partisi pertama semakin berkurang, dimana pada penambahan n-heksan yang pertama filtrat yang dihasilkan berwarna hijau pekat, pada penambahan selanjutnya sampai penambahan yang ketujuh fraksi n-heksan jadi bening. Artinya senyawa non polar yang terdapat pada fraksi etanol daun kaembu-embu telah terekstraksi sempurna dalam pelarut n-heksan. Tujuan partisi menggunakan pelarut n-heksan selain untuk mengikat larutan yang bersifat non polar tapi untuk mengikat lemak yang terkandung dalam suatu tumbuhan yang jadi sampel uji.

Fraksi etanol hasil partisi tahap awal, kemudian dilanjutkan dengan partisi tahap akhir. Ekstrak etanol yang diperoleh dipartisi kembali dengan pelarut etil asetat, dengan bantuan pemisahan yakni pelarut air dengan perbandingan secara keseluruhan 1:2:2, satu untuk etanol dan 2 untuk pelarut etil asetat dan air. Ditahap partisi ini dilakukan sebanyak dua kali, yang ditandai intensitas warna etil asetat jadi bening. Hal ini dilakukan untuk mendapatkan senyawa-senyawa metabolit sekunder yang bersifat polar dari hasil partisi tersebut, sehingga dalam pengujiannya akan mendapatkan senyawa metabolit sekunder yang bersifat polar.

Pemilihan perbedaan pelarut dalam tahap partisi ini dilakukan dengan maksud untuk menarik senyawa-senyawa kimia

berdasarkan sifat pada masing-masing pelarut. Fraksi etil asetat yang diperoleh secara partisi setelah melalui proses evaporator yaitu 2.5 gram dan Fraksi air yang diperoleh 3.15 gram.

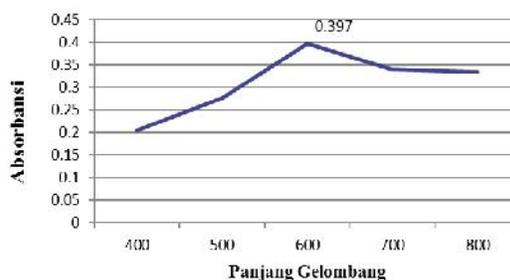
Identifikasi Fenol

Identifikasi fenol dilakukan untuk mengetahui ada atau tidaknya senyawa fenolik pada ekstrak etanol hasil maserasi, fraksi etil asetat maupun fraksi air hasil partisi daun kaembu-embu (*Blumea balsamifera*) menggunakan reagen FeCl_3 . Berdasarkan hasil pengamatan diketahui bahwa semua ekstrak daun *Blumea balsamifera* ekstrak etanol hasil maserasi, fraksi etil asetat dan fraksi air hasil partisi mengandung senyawa fenol, hal ini ditunjukkan oleh adanya pembentukan senyawa kompleks antara besi dengan fenol yang memberikan warna biru kehitaman.

Analisis Total fenol

Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Panjang gelombang maksimum metode *Folin-Ciocalteu* ditentukan dengan melakukan *scanning* panjang gelombang pada rentang 400-800 nm menggunakan asam galat dengan konsentrasi 1000 ppm. Penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Hasil pengukuran menunjukkan nilai absorban tertinggi pada panjang gelombang 600 nm yaitu 0.397 (Gambar 6). Hasil yang diperoleh dari *scanning* panjang gelombang maksimum menunjukkan hasil yang berbeda dengan lamda maksimum teoritis, yaitu pada panjang gelombang 760 nm. Hal ini dapat disebabkan oleh beberapa hal antara lain jenis pelarut, pH larutan, suhu, konsentrasi tinggi, dan zat-zat pengganggu (Gandjar dan Rohman, 2007).

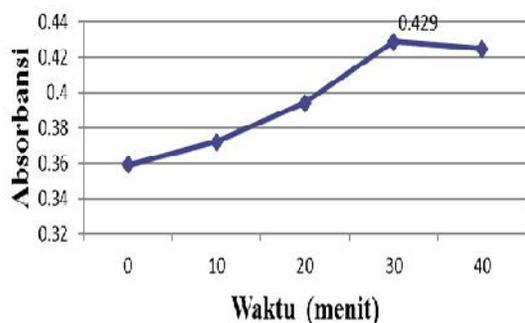


Gambar 1. Kurva Penentuan Panjang Gelombang Maksimum.

Penentuan OT (*Operating Time*)

Penentuan *operating time* dilakukan untuk mendapatkan waktu pengukuran pada saat reaksi telah berjalan optimal yang ditandai dengan absorben yang stabil, sehingga dapat memaksimalkan pengukuran. Pengukuran *Operating Time (OT)* untuk metode *Folin-Ciocalteu* diperoleh dengan cara mereaksikan asam galat konsentrasi 1000 ppm dengan reagen *Folin-Ciocalteu* dan natrium karbonat kemudian diukur pada panjang gelombang maksimum (Mashuni dkk., 2017).

Larutan diukur absorbannya pada waktu 0-40 menit dengan interval 10 menit, pengukuran. Penentuan *OT* reaksi dilihat dari nilai absorban tertinggi selama pengukuran karena kestabilan absorban menggambarkan pembentukan senyawa molibdenum-tungstat, yang memberikan warna biru pada larutan sudah optimal. Absorben meningkat dari menit ke 10, menunjukkan bahwa mulai terjadi pembentukan kompleks warna molibdenum-tungstat. Semakin lama reaksi berjalan, jumlah kompleks warna yang terbentuk semakin banyak ditandai dengan kenaikan absorban secara terus menerus hingga menit ke-30. Hasil pengukuran menunjukkan rerata absorban tertinggi pada waktu 30 menit (Gambar 7).

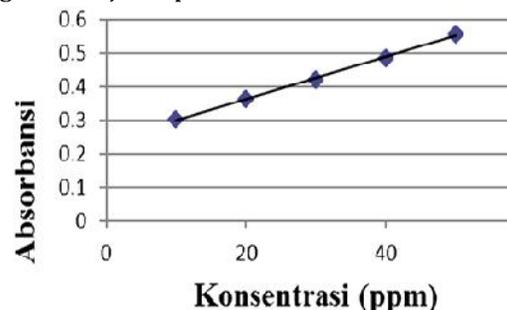


Gambar 2. Kurva Penentuan *Operating Time*

Berdasarkan hasil pengukuran yang diperoleh, adsorben yang tertinggi terjadi pada menit ke-30 yaitu 0,429. Sehingga dapat diketahui *OT* reaksi untuk penetapan fenolik total adalah 30 menit (Yuliana, 2016).

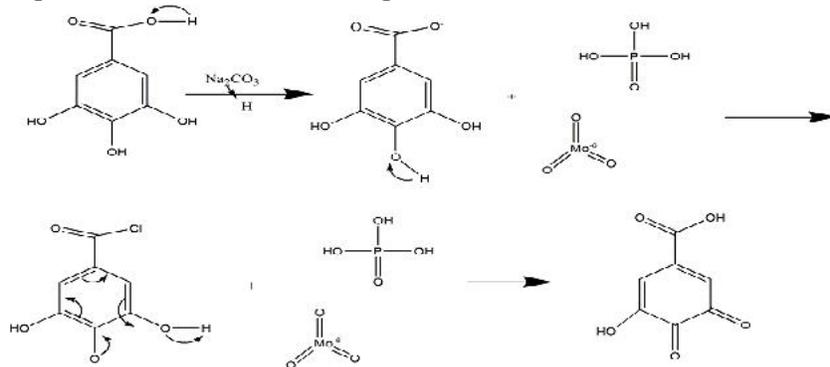
Pengukuran Larutan Standar Asam Galat

Pengukuran absorbansi larutan standar dilakukan sebanyak tiga kali (*triplo*), hasil pengukuran absorbansi larutan standar asam galat disajikan pada Gambar 3.



Gambar 3. Kurva Kalibrasi Larutan Standar Asam Galat

Persamaan regresi linear dari kurva kalibrasi larutan standar asam galat diperoleh koefisien dengan nilai $r = 0,9984$. Harga



Gambar 4. Reaksi Asam Galat dengan Pereaksi Folin-Ciocalteu

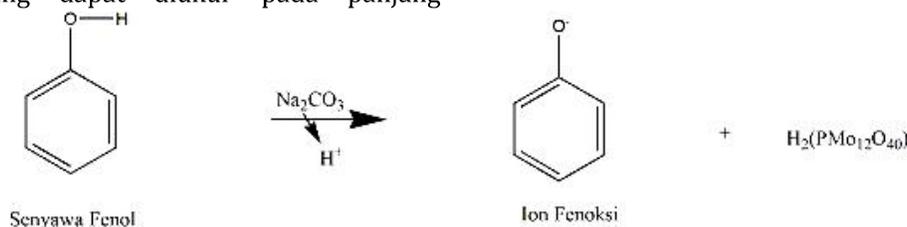
koefisien korelasi (r) yang mendekati 1 menyatakan hubungan yang linear antara konsentrasi dengan absorbansi yang dihasilkan dengan peningkatan nilai absorbansi analit berbanding lurus dengan peningkatan konsentrasi sesuai dengan kriteria koefisien korelasi (r) yang baik. Pengukuran larutan standar dengan variasi konsentrasi diperoleh persamaan regresi linear $y = 0,0063x + 0,237$.

Penentuan Kandungan Total Fenol

Penentuan kadar total fenol dilakukan dengan menggunakan larutan standar asam galat atau asam 3,4,5-trihidroksibenzoat ($\text{C}_6\text{H}_2(\text{OH})_3\text{CO}_2\text{H}$). Menurut Prior dkk., (2005), pemilihan standar penetapan fenolik total disesuaikan dengan senyawa fenolik didalam sampel, namun asam galat merupakan standar yang direkomendasikan untuk mendapatkan hasil yang reliabel. Asam galat diketahui memiliki reaktivitas yang cukup tinggi terhadap reagen *Folin-Ciocalteu* dibandingkan dengan senyawa fenol lainnya sehingga dapat digunakan sebagai standar dalam penetapan kadar fenolik total (Everette dkk., 2010) asam galat bereaksi dengan *Folin-Ciocalteu* dengan suasana basa dan akan terjadi disosiasi proton pada gugus hidroksi asam galat sedangkan kompleks molybdenum-tungstat pada reagen *Folin-Ciocalteu* akan direduksi oleh asam galat sehingga menghasilkan kompleks *molybdenum-blue* seperti terlihat pada Gambar 7. berikut

Penentuan kandungan senyawa fenol hasil partisi etil asetat dan residu (fraksi air) dengan metode *Folin-Ciocalteu* (FC) dilakukan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Prinsip dari metode *Folin-Ciocalteu* adalah terbentuknya senyawa kompleks berwarna biru yang dapat diukur pada panjang

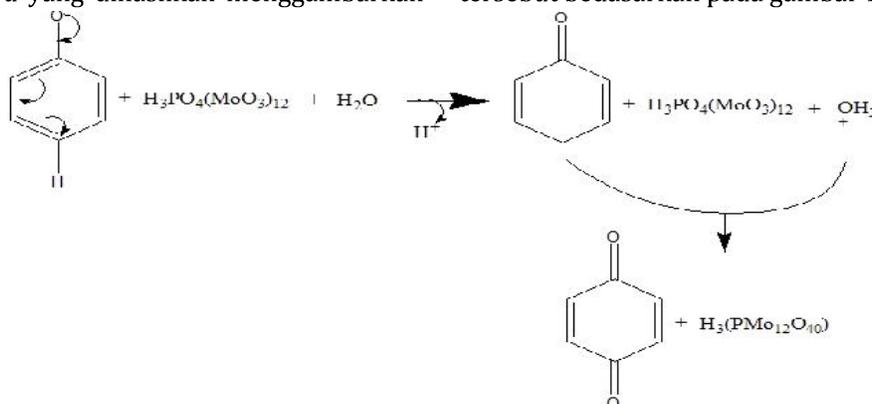
gelombang 600 nm (Agbor dkk., 2014). Ion fenolat dibentuk melalui disosiasi proton senyawa fenol. Reaksi ini hanya dapat terjadi dalam kondisi basa, sehingga digunakan natrium karbonat sebagai salah satu larutan basa (Gambar 8).



Gambar 10. Pembentukan ion fenolat dalam suasana basa

Ion fenolat bereaksi dengan reagen *Folin-Ciocalteu* membentuk kompleks molybdenum-tungsten berwarna biru yang dapat dideteksi dengan spektrofotometer. Warna biru yang dihasilkan menggambarkan

jumlah kompleks yang terbentuk, sehingga semakin tinggi kandungan fenolik dalam suatu ekstrak, semakin pekat warna biru yang dihasilkan (Apsari & Susanti, 2011). Reaksi tersebut berdasarkan pada gambar 11.



Dari data hasil perhitungan, ekstrak etil asetat memiliki total fenolik yang paling tinggi yaitu 4.32 mg GAE/g artinya setiap gram ekstrak setara dengan 100 mg asam galat. Sedangkan fraksi air memiliki total fenolik 3.23 mg GAE/g artinya setiap gram ekstrak setara dengan 100 mg asam galat.

KESIMPULAN

Kandungan fenolik total fraksi etil asetat hasil partisi ekstrak etanol daun kaembu-embu (*Blumea balsamifera*) adalah 4.32 mg GAE/g. Kandungan fenolik total fraksi air sebagai residu partisi ekstrak etanol daun kaembu-embu (*Blumea balsamifera*) adalah 3.23 mg GAE/g.

DAFTAR PUSTAKA

Agbor, G. A., Joe, A. V & Patrick, E. D. 2014. Folin-Ciocalteu Reagent for Polyphenolic Assay. *International Journal of Food Science, Nutrition and Dietetic* (UFS). 3 (8). 147-156.

Aguilar NO (1999). *Blumea balsamifera* (L.) DC.[Internet]. Dalam L.P.A. Oyen dan Nguyen Xuan Dung (Editors). PROSEA (Plant Resources of South-East Asia) Foundation, Bogor, Indonesia.

- Apsari, P. D., Susanti, H. 2011. *Perbandingan Kadar Fenolik Total Ekstrak Metanol Kelopak Merah Dan Ungu Bunga Rosella (Hibiscus Sabdariffa (Hibiscus Sabbdariffa Linn) Secara Spektrofotometr.* Prosiding Seminar Nasional Home Care, Fakultas Farmasi dan Kesmas UAD, Yogyakarta.
- Dalimartha, S. (1990). *Atlas Tumbuhan Indonesia* Jilid 1. Jakarta : Trubus Agriwidya.
- Everette, J. D., Bryant, Q. M., Green, A. M., Abbey, Y. A, Wangila, G. W., & Walker, R. B. 2010. Thorough Study of Reactivity of Various Compound Classes Toward the Folin-Ciocalteu Reagent. *Journal Agric, Food Chem.* 58;8139-8144.
- Gandjar, I. G., & Rohman, A. 2007. *Kimia Farmasi Analisis.* Pustaka Pelajar. Yogyakarta. Hal. 220-265.
- Guenter, E. 1987. *Minyak Atsiri Jilid I.* UI Press. Jakarta.
- Mashuni, Jihiding, M., Kurniasih & Zulkaidah. 2017. Characterization of Preservative and Pesticide as Potential of Bio Oil Compound From Pyrolysis of Cocoa Shell Using Gas Chromatography. *Journal International Conference on Chemistry, Chemical Process and Chemical Sciences.* 8(3): 1745-1752.
- Mursito, B. 2002. *Ramuan Tradisional untuk Pengobatan Jantung.* Penerbit Swadaya. Jakarta.
- Norikura, T., Kojima, Y.A. Shimizu, M., Huang, X. Xu, S., Kametani, S., Rho, S.N., Kennedy, D.O., and Matsui, Y.I. 2008. Anticancer activities and mechanisms of *Blumea balsamifera* extract in hepatocellular carcinoma cells. *Am J Chin Med.* 36(2):411-24.
- Rahardjo Setyo S. 2016. Review Tanaman Sembung (*Blumea Balsamifera* L.). *Prosiding Seminar Nasional Tumbuhan Obat Indonesia Ke-50.* Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta. Samarinda.
- Sakee, U., Maneerat S., Cushnie TP., De-Eknankul W. 2011. Antimicrobial activity of *Blumea balsamifera* (Lin.) DC. extracts and essential oil. *Nat Prod Res.* 25(19):1849-56.
- Sudirman, S., Nurhjanah., Abdullah, A. 2011. Aktivitas Antioksidan dan Komponen Bioaktif Kangkung Air (*Ipomea aquatic forsk.*). *Skripsi.* Departement Teknologi Hasil Perairan. IPB. Bogor.
- Tomahayu, R. 2014. Identifikasi Senyawa Aktif dan Uji Toksisitas Ekstrak Daun Binahong (*Androedracordifolia* Te. Steenis) dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BLST). *Tesis.* Universitas Negeri Gorontalo.
- Vermerris, W., Nicholson, R. 2008. *Phenolic Compound Biochemistry,* Springer, USA, pp.
- Wang, J. x., Xiao, X. H & Li, G. K. 2008. Study of Vacuum Microwave Assisted Extraction of Polyphenolic Compound and Pigment From Chinese Herbs. *Journal of Chromatography A.* 1198-1199: 45-53.