

PENENTUAN KADAR FENOLIK TOTAL EKSTRAK ETANOL 96% DAUN TERAP (*Artocarpus odoratissimus* Blanco) DENGAN METODE SPEKTROFOTOMETRI *VISIBEL*

Anna Khumaira Sari^{*}, Noor Aisyah, Erna Prihandiwati
Akademi Farmasi ISFI Banjarmasin

*Email: annakhumairasari17@gmail.com

Artikel diterima: 4 Desember 2019; Disetujui: 28 Februari 2020

DOI: <https://doi.org/10.36387/jiis.v5i1.417>

ABSTRAK

Daun terap (*Artocarpus odoratissimus* Blanco) merupakan tanaman yang memiliki kandungan flavonoid yang merupakan golongan fenolik. Senyawa tersebut efektif sebagai antioksidan alami. Antioksidan berfungsi mengurangi kecepatan peroksidasi lipid dengan memberikan elektron pada radikal bebas sehingga dapat membentuk molekul normal kembali. Senyawa fenol juga memiliki sifat bakteriosid, antihelminik, analgetik, antiinflamasi, antimikroba, antikanker dan penyakit degeneratif. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui kadar fenolik total yang terkandung di tanaman daun terap. Daun terap diperoleh dari Kota Amuntai, Hulu Sungai Utara yang telah dipilih berdasarkan kriteria inklusi dan eksklusi. Senyawa fenolik pada daun terap diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 96%. Pengujian kualitatif daun terap ditetapkan menggunakan pereaksi FeCl₃, sedangkan untuk uji penetapan kadar daun terap dinyatakan dengan nilai ekivalensi asam galat. Metode yang digunakan adalah Spektrofotometri *Visibel* dengan pereaksi *Folin ciocalteau*. Konsentrasi yang digunakan pada kurva regresi linier 5, 10, 15, 20, 25 dan 30 µg/mL. Hasil uji kualitatif diperoleh ekstrak daun terap mengandung senyawa fenolik dengan ditandai perubahan warna kuning menjadi warna hijau. Berdasarkan hasil uji kuantitatif diperoleh *operating time* pada menit ke-1 dan panjang gelombang maksimal yang diperoleh adalah 762 nm. Persamaan regresi linier yang diperoleh $y = 0,0213x + 0,117$. Nilai kadar fenolik total yang didapat pada ekstrak daun terap adalah 10,56 % b/b.

Kata kunci: Etanol 96%, Ekstrak Daun Terap, Fenolik, Spektrofotometri

ABSTRACT

Terap leaf (Artocarpus odoratissimus Blanco) is a plant that contains flavonoids which are phenolic groups. These compounds are effectively used as natural antioxidants. Antioxidants function to reduce the speed of lipid peroxidation by giving electrons to free radicals, can make normal molecules. Phenol compounds also have bacteriosid, antihelminic, analgesic, anti-inflammatory, antimicrobial, anticancer and degenerative diseases. The purpose of this study was to determine the total phenolic levels contained in the terap leaf plants. The terap leaves were obtained from Amuntai City, Hulu Sungai Tengah which were selected

based on inclusion and exclusion criteria. Phenolic compounds in terap leaves were extracted using maceration method using 96% ethanol solvent. Qualitative testing of terap leaf was determined using $FeCl_3$ reagent, determination of terap leaf compounds was expressed with gallic acid equivalence value. The method used is Visible Spectrophotometry with Folin ciocalteau reagents. The concentrations used in linear regression curves are 5, 10, 15, 20, 25 and $30\mu g / mL$. Qualitative test results obtained the terap leaf extract positive containing phenolic compounds with marked changes in yellow to green. Based on quantitative test results obtained operating time at minute 1 and the maximum wavelength obtained is 762 nm. Linear regression obtained by $y = 0.0213x + 0.117$. The value of total phenolic content obtained in the terap leaf extract was 10.56% w / w.

Keywords: Ethanol 96%, Terap Leaf Extract, Phenolic, Spectrophotometry

PENDAHULUAN

Indonesia mempunyai kekayaan alam tumbuhan sebesar 30.000 jenis tumbuhan dari total 40.000 jenis tumbuhan di dunia. Sebanyak 940 jenis diantaranya merupakan tumbuhan berkhasiat obat jumlah ini merupakan 90% dari jumlah tumbuhan obat di Asia (Ridho, 2013). Kalimantan merupakan salah satu hutan tropis terbesar di Indonesia. Terdapat berbagai *family Artocarpus* yang memiliki 25 spesies, dimana 13 spesies di antaranya endemik, namun baru dua spesies yang dimanfaatkan yaitu : *Artocarpus heterophyllus* dan *Artocarpus integer* salah satu tanaman yang belum dimanfaatkan khasiat nya yaitu daun terap (*Artocarpus odoratissimus* Blanco) (Hakim, 2011).

Menurut penelitian Septiani dan Erwin (2013), diketahui bahwa

sejumlah spesies *Artocarpus* banyak menghasilkan senyawa golongan terpenoid, fenolik, dan stilbenoid. Senyawa ini termasuk jenis metabolit sekunder yang memperlihatkan keanekaragaman struktur dari segi kerangka karbon maupun gugus fungsi yang sekaligus memberikan sifat bioaktivitas yang beraneka ragam pula, seperti efek hipotensif dan antitumor. Pada biji dan daging buah daun terap (*Artocarpus odoratissimus* Blanco) dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan (Septiani dan Erwin, 2013) dan pada daun terap (*Artocarpus odoratissimus* Blanco) mengandung senyawa flavonoid dan steroid dalam ekstrak metanol (Tasmin, 2014).

Menurut penelitian Septiani dkk., (2013), tanaman *Artocarpus* memiliki kandungan flavonoid yang

merupakan golongan dari fenolik yang juga sangat efektif sebagai antioksidan alami. Senyawa fenolik merupakan senyawa aromatik sehingga semuanya menunjukkan absorbansi kuat di daerah spektrum *Visibel*. Selain itu, secara khas senyawa fenolik menunjukkan geseran batokromik (pergeseran serapan panjang gelombang ke lebih tinggi), karena sisipan atau pengaruh pelarut pada spektrum bila ditambahkan basa.

Berdasarkan penelitian sebelumnya senyawa fenolik total dapat dihitung kadarnya menggunakan metode spektrofotometri visibel. Metode spektrofotometri visibel dipilih karena metode ini mudah digunakan, murah, dan reliabel sehingga memberikan presisi yang baik untuk melakukan pengukuran kuantitatif senyawa kimia. Tanaman daun terap (*Artocarpus odoratissimus* Blanco) berpotensi besar untuk dimanfaatkan sebagai antioksidan, maka perlu dilakukan penelitian untuk menetapkan kadar fenolik total pada ekstrak daun terap (*Artocarpus odoratissimus* Blanco).

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat-alat gelas, neraca analitik, aluminium foil, kuvet, kertas saring, *vaccum rotary evaporator*, blander, spektrofotometer, stirrer, penangas air, mikropipet, corong *Buchner*, dan *waterbath*.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun terap yang dibuat ekstrak etanol 96% yang diperoleh dari Kota Amuntai, Hulu Sungai Utara yang diambil pada bulan April 2019, reagen *Folin ciocalteu*, pelarut etanol 96% , Asam Galat, Aquadest , Natrium Karbonat 7,5%.

Pembuatan Ekstrak

Daun Terap dikumpulkan dan dibersihkan dari kotoran yang menempel lalu timbang kemudian cuci di bawah air mengalir, dipotong lalu dikeringkan dalam oven dengan suhu 60°C. Daun terap yang sudah kering ditimbang sampai bobot konstan sebanyak 3 kali kemudian diserbuk dan dihitung susut pengeringan.

Sebanyak 300 gram serbuk daun terap diekstraksi dengan pelarut etanol 96% dengan perbandingan (1:5) yaitu sebanyak 1500 mL etanol 96%

ekstraksi dilakukan selama 3 x 24 jam sesekali diaduk (Niah dan Helda, 2016), hingga diperoleh maserat. Penguapan dilakukan dengan *rotary evaporator* dan *waterbath* dengan suhu 50⁰C, kemudian dihitung rendemen. (Niah dan Helda, 2016)

Penetapan Kadar Fenolik Total

Penentuan *operating time*

Sebanyak 300 µL larutan asam galat konsentrasi 30 µg/mL ditambahkan dengan reagen *Folin-ciocalteu* sebanyak 1,5 mL sebelumnya telah diencerkan 10 kalinya dan kocok, selanjutnya ditambahkan dengan 1,2 mL natrium karbonat 7,5%. Baca absorbansi larutan setiap 5 menit dengan spektrofotometer *Visibel* pada panjang gelombang 765 nm selama 60 menit

Penentuan panjang gelombang absorbansi maksimum

Sebanyak 300 µL larutan asam galat konsentrasi 30 µg/mL ditambahkan dengan reagen *Folin-ciocalteu* sebanyak 1,5 mL, sebelumnya telah diencerkan 10 kalinya dan kocok, selanjutnya ditambahkan dengan 1,2 mL natrium karbonat 7,5%. Diamkan selama *operating time* lalu baca absorbansi

pada panjang gelombang 600-800 nm sebanyak 3x replikasi

Penentuan kurva baku asam galat

Sebanyak 300 µL larutan asam galat konsentrasi 5, 10, 15, 20, 25, dan 30µg/mL ditambahkan dengan reagen *Folin-ciocalteu* sebanyak 1,5 mL sebelumnya telah diencerkan 10 kalinya dan kocok, selanjutnya ditambahkan dengan 1,2 mL natrium karbonat. Diamkan selama *operating time* lalu baca absorbansi pada panjang gelombang maksimum

Penentuan kandungan total fenolik ekstrak daun terap

Sampel ekstrak daun terap masing-masing ditimbang 10 mg dilarutkan dengan etanol dan aquadest (1:1) ad 50 mL, lalu diencerkan hingga 100 ppm. Kemudian larutan ekstrak yang diperoleh dipipet 300 µL ditambahkan dengan reagen *Folin-ciocalteu* sebanyak 1,5 mL sebelumnya telah diencerkan 10 kalinya dan kocok, selanjutnya ditambahkan dengan 1,2 mL natrum karbonat. Diamkan selama *operating time* lalu baca absorbansi pada panjang gelombang maksimum (Alfian dan Susanti, 2012).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Daun terap diambil dari di Kota Amuntai, Hulu Sungai Utara yang dipilih sesuai dengan kriteria inklusi dan eksklusi, lalu dilakukan proses sortasi basah dan ditimbang sebesar 6 kg. Daun terap dipotong kecil-kecil. Tujuan perajangan daun terap adalah untuk mempercepat pengeringan, diperoleh bobot konstan yaitu 2,5 kg.

Pengeringan dilakukan dengan menggunakan sinar matahari karena suhunya hanya berkisar antara 25-50^o C, dimana suhu tersebut bukan suhu yang dapat merusak zat aktif fenolik. (Nuria dkk., 2009). Pada proses pengeringan dari 6 kg daun terap segar mengalami penyusutan menjadi 2,5 kg. Hasil data tersebut dilakukan perhitungan susut pengeringan yang di dapat hasil 58,33%.

Hasil Pembuatan Ekstrak Daun Terap

Pelarut yang digunakan dalam penelitian ini adalah etanol 96%. Etanol 96% adalah pelarut yang memiliki karakteristik semi polar dan mampu menyari sebagian besar kandungan senyawa fenolik dari simplisia. Senyawa fenolik yang

disaring pada penelitian ini bersifat semi polar.

Tabel 1. Jumlah serbuk, pelarut dan hasil filtrat

Berat Serbuk (g)	Pelarut	JumLah Pelarut	Hasil Filtrat (mL)
		Maserasi, Remaserasi ke-1 dan ke-2 (mL)	
300	Etanol 96%	1500	2650
		1000	
		1000	

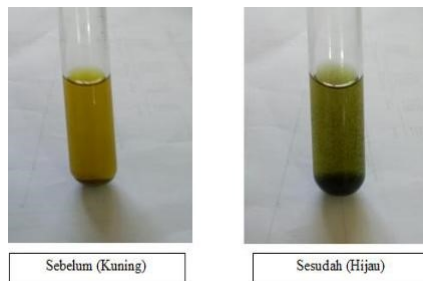
Filtrat lalu disaring dan diuapkan hingga didapat ekstrak kental sampai bobot konstan dan didapatkan ekstrak kental sebanyak 50,936 gram. Menurut penelitian Rezi dan Mambang (2018), penyarian senyawa sekunder pada genus (*Artocarpus*) menggunakan serbuk kering sebanyak 200 gram dengan penggunaan pelarut etanol 96% 3,2 L menghasilakan rendemen ekstrak kental 26,18 gram. Pada penelitian pada genus (*Artocarpus*) menggunakan serbuk kering sebanyak 500 gram dengan pelarut etanol 96% 2 L menghasilkan rendemen ekstrak kental 31,20 gram (Darmawati., 2015).

Rendemen ekstrak pada penelitian ini adalah 16,98%. Hal ini menunjukkan zat aktif yang tertarik

dengan pelarut etanol 96% cukup maksimal, jika dibandingkan dengan penelitian sebelumnya yaitu 13,09 % dan 6,24 %.

Hasil Uji Kualitatif Senyawa Fenolik Ekstrak Etanol 96 % Daun Terap

Berdasarkan hasil uji kualitatif diatas ekstrak etanol 96% daun terap positif mengandung fenolik yang ditandai adanya perubahan warna ekstrak etanol 96% dari kuning ke warna hijau setelah ditambahkan pereaksi $FeCl_3$.



Gambar 1. Hasil Uji Kualitatif

Uji Kuantitatif Ekstrak Etanol 96% Daun Terap (*Artocarpus odoratissimus* Blanco)

Analisis kuantitatif kadar fenolik pada Daun Terap (*Artocarpus odoratissimus* Blanco) dengan metode *Folin Ciocalteu*. Pereaksi *Folin Ciocalteu* ini mengoksidasi fenolat (garam alkali) atau gugus fenolik-

hidroksi, lalu mereduksi asam heteropoli (fosfomolibdat-fosfotungstat) membentuk suatu kompleks molibdenum-tungsten. Senyawa fenolik bereaksi dengan reagen *Folin Ciocalteu* hanya dalam suasana basa agar terjadi disosiasi proton. Pada senyawa fenolik menjadi ion fenolat. Untuk membuat kondisi basa digunakan Na_2CO_3 7,5%.

Gugus hidroksil pada senyawa fenolik bereaksi dengan reagen *Folin Ciocalteu* membentuk kompleks molibdenumtungsten berwarna biru yang dapat dideteksi dengan spektrofotometer *visibel*. Semakin besar konsentrasi senyawa fenolik maka semakin banyak ion fenolat yang akan mereduksi asam heteropoli (fosfomolibdat-fosfotungstat) menjadi kompleks molibdenum-tungsten sehingga warna biru yang dihasilkan semakin pekat (Alfian dan Susanti, 2012).

Penentuan *operating time* (OT)

Hasil pengukuran dengan panjang gelombang teoritis 765 nm diperoleh hasil pengukuran OT stabil pada menit 1 sampai menit 4.

Penentuan panjang gelombang

Penentuan panjang gelombang maksimal diukur dalam rentang 600-800 nm. Hasil panjang gelombang maksimum yang diperoleh adalah 762 nm dengan nilai absorbansi 0,760.

Penentuan panjang gelombang maksimal ini bertujuan untuk mengetahui absorbansi maksimal dari sampel (Alfian dan Susanti, 2012).

Penentuan kurva baku

Data pembacaan absorbansi kurva baku asam galat pada panjang gelombang maksimum yaitu 762 nm dengan seri konsentrasi 5,15,20,25,30 ppm dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil absorbansi larutan seri kadar Asam galat

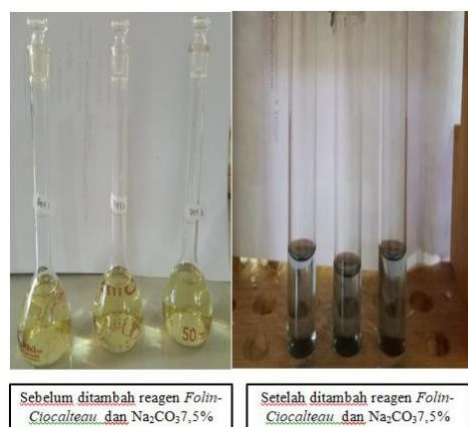
Konsentrasi (mg/L)	Absorbansi	Persamaan regresi linear
5	0.241	$y = 0,02127829x + 0,1166133$
10	0.321	
15	0.427	
20	0.532	
25	0.636	
30	0.776	

Regresi linier yang diperoleh yaitu $y = 0,02127829x + 0,1166133$ dengan nilai R sebesar 0,99701. Nilai R yang didapat lebih besar dari nilai R tabel 0,8114 hal ini menunjukkan nilai R yang didapat sudah valid.

Sedangkan nilai R^2 dengan nilai 0,9941 sama dengan 99,41% angka tersebut mengandung arti bahwa berpengaruh terhadap absorbansi sebesar 99,41% (Kumalasari dkk., 2018).

Pengukuran Kadar Sampel Ekstrak Daun Terap

Pengukuran dilakukan menggunakan reagen *Folin-ciocalteu* dengan metode spektrofotometri uv visibel.



Gambar 2. Uji kuantitatif

Tabel 3. Hasil perhitungan kadar fenolik total ekstrak daun terap

Nilai abs (A)	Kadar (mg/L)	Fenolik total (% b/b)	Rata-rata fenolik total (% b/b)
0,364	11,626	11,626	$10,56 \pm 0,0028$
0,350	10,968	10,968	
0,310	9,088	9,088	

Kadar fenolik pada ekstrak etanol 96% daun terap (*Artocarpus odoratissimus* Blanco) diperoleh

dengan cara memasukkan nilai absorbansi pada kurva baku standar asam galat sehingga hasil dari kadar rata-rata fenolik ekstrak etanol 96% daun terap (*Artocarpus odoratissimus* Blanco) yang didapat kecil 10,56 %b/b ekstrak. Jika dibandingkan dengan penelitian sebelumnya dengan genus yang sama yaitu ekstrak daun sukun berkisar antara $1,181 \pm 0,029$ - $7,464 \pm 0,115$ %b/b Ekuivalen Asam Galat (EAG) (Azzahra, 2015) dan penelitian

dari Utami., dkk (2015) ekstrak daun sukun mengandung senyawa fenolik total sebanyak 52,67 mg GAE/g ekstrak. Semakin tinggi kadar fenolik maka semakin tinggi juga manfaatnya.

Berdasarkan hasil uji kualitatif daun terap (*Artocarpus odoratissimus* Blanco) positif mengandung senyawa fenolik. Adapun senyawa fenolik diketahui memiliki berbagai macam manfaat yaitu antioksidan, melindungi struktur sel, antiinflamasi, dan antiseptik (Primadini, 2010).

KESIMPULAN

Daun Terap (*Artocarpus odoratissimus* Blanco) yang berasal dari Kota Amuntai, Hulu Sungai Utara secara kualitatif mengandung senyawa

fenolik dan kadar fenolik total ekstrak etanol 96% Daun Terap adalah 10,56 % b/b

DAFTAR PUSTAKA

- Alfian, R. dan Susanti, H., (2012), Penetapan Kadar Fenolik Total Ekstrak Metanol Kelopak Bunga Rosella Merah (*Hibiscus Sabdariffa* Linn) Dengan Variasi Tempat Tumbuh Secara Spektrofotometri, *Pharmaciana* 2, <https://doi.org/10.12928/pharmaciana.v2i1.655>
- Azzahra, A., (2015), Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Sukun (*Artocarpus Altilis* (Park.) Fosberg) Dengan Metode Frap Serta Penetapan Kandungan Fenolik Dan Flavonoid Totalnya.
- Darmawati, A.A.S.K., Bawa, I.G.A.G, Suirta, W.I., (2015), Isolasi dan Identifikasi Senyawa Golongan Flavonoid Pada Daun Nangka (*Artocarpus heterophyllus* Lmk) Dan Aktivitas Antibakteri Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*, Universitas Udayana. Fak. Mat. dan Pengetah. Alam Univ. Udayana.
- Hakim, A, 2011, Keanekaragaman Metabolit Sekunder Genus *Artocarpus* (Moraceae). *Bioteknologi* 8 (2): 86-98, ISSN: 0216-6887.
- Kumalasari, Eka, M. Ahlun Nazir, Aditya Maulana Perdana Putra. (2018). Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol

- 70% Daun Bawang Dayak (Eleutherine palmifolia L.) Dengan Metode Spektrofotometri Uv-Vis. *Jurnal Insan Farmasi Indonesia*. 1(2) 201-209
- Mambang, D.E.P. dan Rezi, J., (2018), Efektivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Nangka (*Artocarpus heterophyllus* L) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*.
- Niah, R. dan Helda., (2016), Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kulit Buah Naga Merah Daerah Pelayari, Kalimantan Selatan Dengan Metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil), *Akad. Farm. ISFI Banjarmasin* 03, 7.
- Nuria M C, Faizatun A, dan Sumantri, (2009). Uji Aktifitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922 dan *Salmonella typhi* ATCC 1408. *Media Grow*, (5):26-37.
- Primadini, R.,D. (2010). Uji aktivitas pengkelatan besi pada ekstrak metanol tanaman obat pegagan (*Centella asiatica*), Bunga Merak (*Caesalpinia pulcherimma*) dan Sendilaw Udang (*Commersonia batramia*). Skripsi.
- Ridho, E.A., (2013), Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Buah Lakum (*Cayratia Trifolia*) Dengan Metode Dpph (2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil) Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol, Fak. Kedokt. Univ. Tanjungpura Pontianak 13.
- Septiani, T., wahyu., Erwin., (2013), Uji Toksisitas (Brine Shrimp Lethality Test) Dan Penentuan Aktivitas Antioksidan Alami Dari Daun Terap (*Artocarpus odoratissimus* b.) Dengan Metode Dpph (2,2-Diphenyl-1-Picrylhidrazil).
- Tasmin, N., Erwin, dan I.W. Kusuma. (2014). Isolasi, Identifikasi dan Uji Toksisitas Senyawa Flavonoid Fraksi Kloroform dari Daun Terap (*Artocarpus Odoratissimus* Blanco). *Jurnal Kimia FMIPA Universitas Mulawarman*. 12(1): 45-47.