

**KORELASI KANDUNGAN FENOLIK DAN AKTIVITAS ANTIRADIKAL EKSTRAK ETANOL
DAUN EMPAT TANAMAN OBAT INDONESIA (*Piper betle*, *Sauropus androgynus*, *Averrhoa
bilimbi*, dan *Guazuma ulmifolia*)**

**CORRELATION PHENOLIC CONTENT AND ANTIRADICAL ACTIVITIES ETHANOL
EKSTRACT LEAVES FOUR PLANT DRUG INDONESIA (*Piper betle*, *Sauropus androgynus*,
Averrhoa bilimbi, dan *Guazuma ulmifolia*)**

Ika Trisharyanti Dian Kusumowati*, Tanti Azizah Sudjono,
Andi Suhendi, Muhammad Da'i, Ririn Wirawati
Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta
kyandika@yahoo.com

ABSTRAK

Fenolik merupakan senyawa yang memiliki kemampuan untuk merubah atau mereduksi radikal bebas. Penelitian ini dilakukan untuk melihat korelasi antara kadar fenolik total terhadap aktivitas penangkap radikal ekstrak etanol daun Piper betle (*Sirih*), *Sauropus androgynus* (*Katuk*), *Averrhoa bilimbi* (*Belimbing Wuluh*), dan *Guazuma ulmifolia* (*Jati belanda*). Penentuan aktivitas antiradikal dilakukan dengan metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) terhadap ekstrak etanol daun keempat spesies. Absorbansi dibaca pada λ 517,6 nm pada waktu 30 menit. Penelitian dilanjutkan dengan penetapan kadar fenolik total dengan metode Follin Ciocalteu yang dinyatakan dalam Gallic Acid Equivalent. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun Sirih ($IC_{50} = 22,067 \mu\text{g/mL}$; GAE = 210,11 mg/g sampel) mempunyai aktivitas antiradikal lebih besar dibandingkan ekstrak etanol daun Jati Belanda ($IC_{50} = 126,29 \mu\text{g/mL}$; GAE = 95,465 mg/g sampel), ekstrak etanol daun Belimbing Wuluh ($IC_{50} = 112,82 \mu\text{g/mL}$; GAE = 64,84 mg/g sampel), dan ekstrak etanol daun Katuk ($IC_{50} = 310,82 \mu\text{g/mL}$; GAE = 42,79 mg/g sampel). Koefisien korelasi dari persamaan regresi linier antara IC_{50} dan kadar fenolik total dalam GAE menunjukkan 64,9% aktivitas antiradikal ekstrak disumbangkan oleh kandungan fenolik totalnya.

Kata kunci: Piper betle, *Sauropus androgynus*, *Averrhoa bilimbi*, *Guazuma ulmifolia*, antiradikal, fenolik, DPPH.

ABSTRACT

Phenolic compounds could alter or reduce free radicals. This study was conducted the correlation between total phenolic content scavenging activity of ethanol extract of leaf of Piper betle, *Sauropus androgynus*, *Averrhoa bilimbi*, and *Guazuma ulmifolia*. Antiradical activity was performed by the DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil) method. Absorbance read at λ 517.6 nm at 30 minutes. Determination of total phenolic levels are expressed as Gallic Acid Equivalent. The results showed that ethanol extract of betel leaf ($IC_{50} = 22,067 \mu\text{g/mL}$; GAE = 210,11 mg/g sample) had a antiradical activity is greater than the ethanol extract of jati belanda leaf ($IC_{50} = 126,29 \mu\text{g/mL}$; GAE = 95,465 mg/g sample), starfruit leaf ethanol extract ($IC_{50} = 112,82 \mu\text{g/mL}$; GAE = 64,84 mg/g sample), and katuk leaf ethanol extract ($IC_{50} = 310,82 \mu\text{g/mL}$; GAE = 42,79 mg/g sample). The correlation coefficient of linear regression equation between the IC_{50} and total phenolic content in GAE showed that 64.9% antiradical scavenging activity is donated by phenolic compounds of those plane.

Key Words : Piper betle, *Sauropus androgynus*, *Averrhoa bilimbi*, *Guazuma ulmifolia*, antiradical, phenolic, DPPH.

PENDAHULUAN

Radikal bebas merupakan suatu molekul yang sangat reaktif karena mempunyai satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan. Radikal bebas yang berlebih dapat menyerang senyawa apa saja terutama yang rentan seperti lipid dan protein dan berimplikasi pada timbulnya berbagai penyakit degeneratif (Middleton *et al.*, 2000) seperti penyakit jantung, arteriosklerosis, kanker, serta gejala penuaan (Tahir dkk., 2003). Hal ini dapat terjadi

sebagai akibat kurangnya antioksidan dalam tubuh, sehingga tidak mampu mengimbangi terjadinya produk oksidasi setiap saat.

Senyawa antioksidan merupakan inhibitor penghambat oksidasi. Antioksidan menstabilkan radikal bebas dengan melengkapi kekurangan elektron yang dimiliki radikal bebas, dan menghambat terjadinya reaksi berantai dari pembentukan radikal bebas (Utami dkk., 2009).

Beberapa antioksidan dapat dihasilkan dari produk alami seperti dari rempah, herbal, sayuran, dan buah. Senyawa kimia yang tergolong dalam kelompok antioksidan dan dapat ditemukan pada tanaman, antara lain berasal dari golongan polifenol, vitamin C, vitamin E, β -karoten, katekin, dan resveratrol (Rahmawati, 2004; Djatmiko *et al.*, 1998 *cit.* Parwata dkk., 2009). Senyawa lain yang berpotensi sebagai antioksidan adalah flavonoid. Flavonoid memiliki kemampuan untuk merubah atau mereduksi radikal bebas dan juga sebagai antiradikal bebas (Giorgio, 2000). Salah satu tanaman obat yang banyak tumbuh di Indonesia adalah tumbuhan Sirih, Katuk, Belimbing Wuluh, dan Jati Belanda. Penelitian ini dilakukan untuk menentukan aktivitas antiradikal daun tanaman tersebut dikaitkan dengan kandungan senyawa fenoliknya.

METODE PENELITIAN

Alat: spektrofotometer UV-Vis (UV Mini SHIMADZU), neraca analitik (A&D Co. Ltd.), alat gelas, dan pendukung lainnya.

Bahan: ekstrak etanol daun *Piper betle*, *Sauropus androgynus*, *Averrhoa bilimbi*, dan *Guazuma ulmifolia*, DPPH, etanol *p.a.*, folin-cocalteu *p.a.*, asam galat *p.a.*, natrium karbonat *p.a.*, vitamin E, alumunium foil.

Jalannya Penelitian

Uji Kualitatif (Metode KLT dengan Pereaksi Semprot)

Lempeng KLT yang akan digunakan diaktifkan terlebih dahulu dengan di oven selama 1 jam pada suhu 105°C. Tiap ekstrak dengan pembanding vitamin E, asam galat, dan kuersetin dengan kadar 0,1% ditotolkan dalam KLT sebanyak 2 μ L. Kemudian disemprot dengan reagen DPPH, FeCl₃ (fenolik), dan sitroborat (flavonoid). Untuk identifikasi flavonoid terlebih dahulu diuapi dengan NH₃ kemudian disemprot dengan sitroborat. Lempeng dioven pada suhu 105°C selama 10 menit. Dari ketiga lempeng diamati pada sinar tampak, UV 254 nm, dan UV 366 nm.

Uji aktivitas antiradikal

Uji aktivitas antiradikal ditentukan dengan metode DPPH. Ekstrak dengan seri konsentrasi tertentu ditambahkan dengan 700 μ L larutan DPPH 0,4 mM dan etanol *pro analisis* sampai tanda pada labu takar 5,0 mL. Campuran divorteks selama 30 detik dan diinkubasi selama 30 menit di tempat gelap. Seri konsentrasi yang dibuat dibaca serapannya pada λ_{maks} 517,6 nm dengan blangko 1,0 mL larutan ekstrak ditambah etanol *pro analisis* sampai tanda pada labu takar 5,0 mL. Kontrol

DPPH dengan mereaksikan DPPH dengan etanol *p.a* sampai tanda labu takar 5,0 mL. Hasil pengukuran digunakan sebagai data absorbansi sampel.

Penentuan aktivitas antioksidan vitamin E, larutan stok vitamin E diambil sebanyak 6,25, 12,5, 25, 50, dan 100 μ g/mL. Kemudian masing-masing diperlakukan sama seperti pada penentuan aktivitas ekstrak. Persentase aktivitas penangkap radikal dihitung dengan rumus:

$$\frac{\text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

Penentuan aktivitas antiradikal dilakukan melalui perhitungan IC_{50} (*Inhibitory Concentration*). yaitu konsentrasi substrat yang memberikan 50% aktivitas antiradikal dibanding kontrol melalui suatu persamaan garis regresi linier antara kadar terhadap % penangkapan radikal (Rohman & Riyanto, 2006).

Penentuan kadar fenolik

Kandungan fenolik total dalam ekstrak ditentukan dengan metode Folin-Ciocalteu sesuai dengan yang dilakukan oleh Chun *et al.*, (2003). Sejumlah ekstrak atau standar (asam galat) direaksikan dengan 200,0 μ L reagen Folin-Ciocalteu (diencerkan dengan aquabidest sebanyak 1:1). Campuran divorteks 15 detik dan didiamkan selama 5 menit, kemudian ditambahkan 2,0 mL Na₂CO₃ 7% dan ditepatkan volumenya hingga 5,0 mL dengan aquabidest dalam labu takar dan didiamkan selama 40 menit lalu serapan dibaca pada λ_{maks} 742,5 nm.

Kadar fenolik dalam masing-masing ekstrak dihitung sebagai miligram asam galat per gram ekstrak (GAE). Kadar fenol diperoleh dengan memasukkan absorbansi sebagai Y dalam kurva baku asam galat, sehingga diketahui kadar fenol total dalam ekstrak uji (X).

Hubungan antara kadar fenol total dengan aktivitas antiradikal diketahui dengan menggunakan persamaan regresi linier dengan memplotkan kadar fenolik sebagai X dan aktivitas antiradikal sebagai Y.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji Kualitatif Senyawa Fenolik dan Flavonoid

Hasil uji kualitatif aktivitas antiradikal dengan KLT pada sampel uji yang dideteksi dengan penyemprotan DPPH menunjukkan ke-4 tanaman memiliki aktivitas antiradikal. hal ini ditunjukkan dengan adanya spot warna kuning (Tabel 1).

Deteksi flavonoid dengan pereaksi uap ammonia dilanjutkan dengan sitroborat. Hasil menunjukkan pada UV 254 nm terjadi pepadaman bercak, UV 366 nm terlihat bercak

warna biru tua pada kuersetin sebagai pembanding, berfluoresensi orange pada ekstrak etanol daun sirih, berfluoresensi merah muda pada ekstrak etanol daun katuk, daun belimbing wuluh dan daun jati belanda. Hasil menunjukkan adanya senyawa flavonoid Andersen dan Markham, 2005) pada ekstrak etanol daun sirih dengan turunan senyawa yang berbeda dengan ekstrak etanol daun katuk, belimbing wuluh dan jati belanda.

Fenolik dideteksi menggunakan pereaksi semprot $FeCl_3$ dan menggunakan pembanding asam galat. Hasil menunjukkan pada sinar tampak adanya bercak warna biru pada asam galat sebagai pembanding, kehijauan pada ekstrak etanol daun sirih, warna biru pucat pada ekstrak etanol daun belimbing wuluh dan ekstrak etanol daun jati belanda serta bercak warna kecoklatan pada ekstrak etanol daun katuk. Adanya senyawa polifenol dapat ditandai dengan adanya bercak berwarna hijau, merah, ungu, biru atau hitam yang kuat (Harborne, 1987). Hasil deteksi menunjukkan bahwa keempat ekstrak mengandung senyawa fenolik.

Tabel 1- Tabel Hasil KLT Ekstrak dengan Pembanding Vitamin E, Asam Galat, dan Kuersetin.

Bercak	DPPH	$FeCl_3$	Sitroborat (UV 366)
Vitamin E	Penghambatan Kuning (+++)	-	-
Asam Galat	-	Biru (+++)	-
Kuersetin	-	-	Biru tua (+++)
Sirih	Kuning (+++)	Kehijauan (++)	Orange (+++)
Katuk	Kuning (+++)	Kecoklatan (+)	Merah Muda (+)
B.Wuluh	Kuning (+++)	Biru Pucat (+)	Merah Muda (+)
J.Belanda	Kuning (+++)	Biru Pucat (+)	Merah Muda (+)

Penentuan Aktivitas Antiradikal

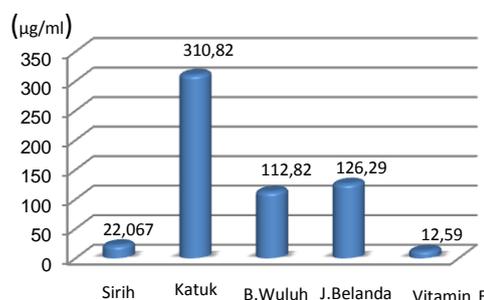
Pemeriksaan aktivitas antiradikal bebas secara spektrofotometri dilakukan dengan mereaksikan sampel dengan larutan DPPH (*Difenil Pikril Hidrasil*).

Hasil penelitian menunjukkan nilai IC_{50} ekstrak etanol daun sirih, belimbing wuluh, jati belanda dan daun katuk secara berturut-turut adalah 22,067 $\mu g/mL$, 112,82 $\mu g/mL$, 126,29 $\mu g/mL$, 310,82 $\mu g/mL$ lebih kecil dibandingkan vitamin E $IC_{50} = 12,59 \mu g/mL$ (Gambar 1).

Secara spesifik suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat jika nilai IC_{50} kurang dari 50 $\mu g/mL$, kuat untuk IC_{50} bernilai 50-100 $\mu g/mL$, sedang jika bernilai 100-150 $\mu g/mL$, dan lemah jika nilai IC_{50} bernilai 151-200 $\mu g/mL$ (Zuhra *et al.*, 2008). Berdasarkan penggolongan tersebut maka vitamin E dan ekstrak daun sirih dapat dikatakan mempunyai aktivitas antiradikal yang sangat kuat, sedangkan pada ekstrak daun belimbing wuluh

dan ekstrak daun jati belanda tergolong mempunyai aktivitas sedang, dan aktivitas antiradikal paling lemah terdapat pada ekstrak daun katuk. Daun sirih memiliki aktivitas paling tinggi dibandingkan dengan ekstrak yang lainnya. Hal ini dimungkinkan karena pada daun sirih terdapat minyak atsiri yang mengandung 30% fenol (Anonim, 2005 *cit. Parwata dkk.*, 2009).

Menurut penelitian sebelumnya tanaman berpotensi antiradikal umumnya mengandung senyawa fenolik (asam fenolat, flavonoid, kuinon, kumarin, lignan, stibena, tanin), senyawa nitrogen (alkaloid, amina, betalain), vitamin (asam L-askorbat, tokoferol), triterpenoid (termasuk karotenoid) dan beberapa metabolit yang kaya akan aktifitas antioksidan (Zheng and Wang, 2001 *cit. Rininta*, 2008).



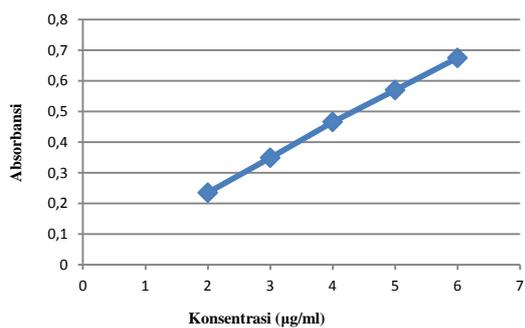
Gambar 1- Kurva Penentuan Aktivitas antiradikal Ekstrak dan Vitamin E

Penentuan Kandungan Senyawa Fenolik Totalnya

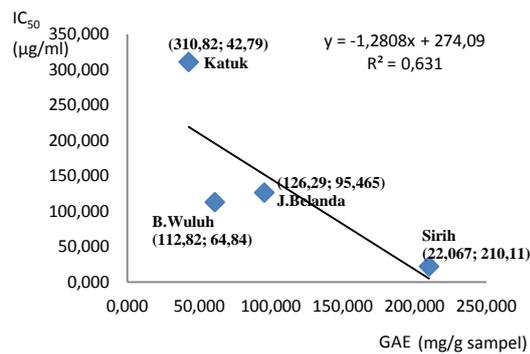
Penentuan kandungan fenolik total dapat dilakukan dengan menggunakan pereaksi Folin-Ciocalteu (Chun *et al.*, 2003). Metode ini berdasarkan kekuatan mereduksi dari gugus hidroksi fenolik.

Salah satu antioksidan alami yaitu asam galat (asam 3, 4, 5-trihidroksibenzoat). Asam galat termasuk dalam senyawa fenolik dan memiliki aktivitas antioksidan yang kuat (Lee *et al.*, 2003). Kurva baku asam galat sebagai standar ditentukan dari hasil persamaan regresi linier antara konsentrasi asam galat (X) dan absorbansi hasil reaksi asam galat dengan reagen Folin-Ciocalteu (Y) dari tiga kali replikasi pengukuran (Gambar 2). Kandungan fenol dalam sampel diperoleh berdasarkan persamaan regresi tersebut.

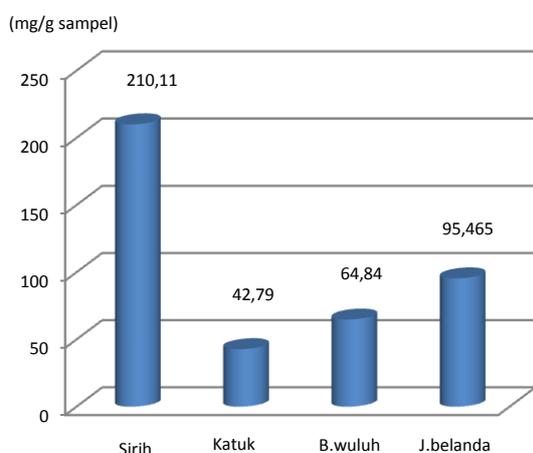
Kandungan fenolik total dalam tumbuhan dinyatakan dalam GAE (*gallic acid equivalent*) yaitu jumlah kesetaraan miligram asam galat dalam 1 gram sampel (Lee *et al.*, 2003). Hasil percobaan menunjukkan kadar fenolik total pada ekstrak etanol daun sirih (210,11 mg/g sampel) paling besar dibandingkan dengan ekstrak etanol daun jati belanda, ekstrak etanol daun belimbing wuluh dan ekstrak etanol daun katuk (Gambar 3).



Gambar 2- Profil Penentuan Kurva Baku Asam Galat dengan Persamaan Regresi Linier $Y = 0,1101 X + 0,0186$, $r = 0,999$



Gambar 4- Kurva Korelasi Aktivitas Antiradikal dengan Kadar Fenolik Total Ekstrak



Gambar 3- Kurva Kadar Fenolik Ekstrak

Korelasi Kandungan Fenolik dengan Aktivitas Penangkap Radikal

Kandungan fenolik pada sampel telah diketahui memiliki aktivitas sebagai antioksidan. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa aktivitas antiradikal dan kadar fenolik ekstrak etanol daun sirih ($IC_{50} = 22,067 \mu\text{g/mL}$; $GAE = 210,11 \text{ mg/g sampel}$) mempunyai aktivitas paling besar dibandingkan dengan ekstrak etanol daun jati belanda ($IC_{50} = 126,29 \mu\text{g/mL}$; $GAE = 95,465 \text{ mg/g sampel}$), ekstrak etanol daun belimbing wuluh ($IC_{50} = 112,82 \mu\text{g/mL}$; $GAE = 64,84 \text{ mg/g sampel}$), dan yang paling rendah yaitu ekstrak etanol daun katuk ($IC_{50} = 310,82 \mu\text{g/mL}$; $GAE = 42,79 \text{ mg/g sampel}$).

DAFTAR PUSTAKA

Andersen, O and Markham, K.R., 2005, *Flavonoid Chemistry, Biochemistry and Applications*, Taylor and Francis Group, Boca Raton, London, New York.

Birowo, A., Suhartono, E., Setiawan, B., 2004, Aktivitas antioksidan dan Enzimatis Infus Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* Linn) dan Potensinya Sebagai Analgetik, *Artikel Penelitian*, Bagian Farmakologi Terapi Fakultas Kedokteran dan Bagian Kimia Kedokteran, Universitas Lambung Mangkurat Banjarbaru, Kalimantan Selatan.

Hal ini menunjukkan aktivitas antiradikal ekstrak daun sirih, daun jati belanda dan daun katuk memiliki korelasi positif dengan kadar fenolik totalnya, dimana semakin tinggi kadar fenolik mengakibatkan semakin besar aktivitas antiradikalnya.

Koefisien korelasi antara kadar fenolik dalam GAE dan aktivitas antiradikal (ditunjukkan dengan harga R^2) adalah 0,631. Hal ini menunjukkan kandungan fenolik menyumbangkan 63,1% pada aktivitas antiradikal yang dimiliki oleh masing-masing ekstrak dan 36,9% dari senyawa lain yang juga berpotensi sebagai antiradikal.

Senyawa yang berfungsi sebagai antiradikal ditentukan oleh adanya gugus fungsi $-OH$ (hidroksil) bebas dan ikatan rangkap terkonjugasi yang terdapat pada tanaman seperti flavon, flavonon, skualen, tokoferol, β -karoten, dan vitamin C (Rahmawati, 2004; Djatmiko *et al.*, 1998 *cit.* Parwata dkk., 2009).

Tanaman belimbing wuluh terdapat senyawa selain fenolik yang memiliki aktivitas antioksidan antara lain vitamin C dan enzim peroksidase (Handayani, 2000; Pramesti, 2002; *cit.* Birowo dkk., 2004).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh, maka dapat ditarik kesimpulan bahwa aktivitas antiradikal ekstrak etanol daun sirih, ekstrak etanol daun katuk, ekstrak etanol daun belimbing wuluh dan ekstrak etanol daun jati belanda berkorelasi positif terhadap senyawa fenolik sebesar 64,9%.

Chun, K.O., Kim Dae-ok., and Lee, Y.C., 2003, Superoxide Radikal Scavenging Activity of the Major Polyphenol in Fresh Plums, *Journal Agric. Food Chem*, Department of Food Science and Tecnology, Cornell University, Geneva, New York.

Giorgio, P., 2000, Flavonoid, an Antioxidant. *Journal National Product*. 63, 1035-1045.

Harborne, J.B., 1987, *Metode Fitokimia : Penentuan Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*, ITB, Bandung.

Lee, K.I., Kim, Y.J., and Lee, C.H., 2003, Cocoa Has Mora Phenolic Phytochemical and Higher Antioksidant Capacity than Teas and Red Wine, *J.Agric. Food Chem.*, 51, 7292-7295.

Midleton, E., Kandaswamim C., and Theoharis, L., 2000, The Effect of Plant Flavonoids on Mamalian Cells: Implication for Information, Heart Disease & Cancer, *Pharmacological Reviews*, 54(4), 711-722.

Parwata, I.M.O.A., Wiwik, S.R., dan Raditya, Y., 2009, Isolasi dan Uji Antiradikal Bebas Minyak Atsiri pada Daun Sirih (*Piper betle* L.) Secara Spektroskopi Ultra Violet-Tampak, *Jurnal Kimia*, 3(1), 7-13, Jurusan Kimia FMIPA Universitas Udayana, Bukit Jimbaran.

Rininta, N., 2008, KLT Autografi-CUPRAC Sebagai Teknik Cepat Pendeteksian Senyawa Antioksidan, *Skripsi*, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor, Bogor.

Rohman, A dan Riyanto, S., 2006, Aktivitas Antiradikal Bebas Ekstrak Kloroform Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia*, L.) dan Fraksi-fraksinya, *Artocarpus*, 6(1), 39.

Tahir, I., Wijaya, K., Widianingsih, D., 2003, *Seminar on Chemometrics- Chemistry Dept Gadjah Mada University*, Terapan Analisis Hansch Untuk Aktivitas Antioksidan senyawa Turunan Flavon/Flavonol, 25 Januari.

Utami, T.S., Rita, A., Heri, H., dan Ahmad, R., 2009, Perbandingan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Simplur (*Dillenia indica*) dari Berbagai Metode Ekstraksi dengan Uji ANOVA, *Seminar Nasional Teknik Kimia Indonesia*, Departemen Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Indonesia, Jakarta.

Zuhra,C.F., Juliarti,B.T., dan Herlince,S., 2008, Aktivitas Antioksidan Senyawa Flavonoid Dari Daun Katuk (*Sauropus androgynus* (L)Merr.), *Jurnal Biologi Sumatra*, 3(1), Departemen Kimia FMIPA-USU,