

Kadar Fenolat Total dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Batang Nyireh (*Xylocarpus granatum* J.Koenig) dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis

Trie Yuni Elfasyari^{1*}, Khairiani Afifah², Regina Andayani³

¹Universitas Batam

²Institut Kesehatan Mitra Bunda

³Universitas Andalas

Email: trie@univbatam.ac.id

Artikel Info

Dikirim : 8 Juni 2022

Revisi : 7 Juli 2022

Diterbitkan: 29 Juli 2022

Abstract

*There is a composition that has been known to have an important role in the treatment of disease is the composition of antioxidants. One of the antioxidant compositions is phenolic compounds, which are compounds contained in plants. From previous studies it is known that plants containing phenolic compounds are nyireh (*Xylocarpus granatum* J.Koenig) which are widely used by the community as traditional medicine for the treatment of various diseases. The purpose of this study was to determine the total phenolic levels contained in Nyireh as an antioxidant activity that can be useful for the body. Testing antioxidant activity using the Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) method. Results of the study showed the highest value of phenolic content contained in nyireh bark extract was the value in ethyl acetate extract of 43.275% while the highest antioxidant activity was seen in the acetic sample of ethyl acetate nyireh stem bark amounting to 9.44 mmol of Fe (II)/100g.*

Keywords: Nyireh, Phenolic, Antioxidant, FRAP

Abstrak

Salah satu senyawa yang telah diketahui memiliki peran penting dalam pengobatan penyakit adalah senyawa antioksidan. Salah satu senyawa antioksidan adalah senyawa fenolat yaitu senyawa yang terkandung dalam tanaman. Salah satu tanaman yang mengandung senyawa fenolat adalah nyireh (*Xylocarpus granatum* J.Koenig) yang banyak digunakan masyarakat sebagai obat tradisional untuk pengobatan berbagai macam penyakit. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui kadar fenolat total yang terkandung pada Nyireh sebagai aktivitas antioksidan yang dapat berguna bagi tubuh. Pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP). Hasil dari penelitian menunjukkan nilai tertinggi kadar fenolat yang terkandung dalam ekstrak kulit batang

nyireh adalah nilai pada ekstrak etil asetat sebesar 43,275% sedangkan untuk aktivitas antioksidan tertinggi terlihat pada sampel ekstrak etil asetat kulit batang nyireh sebesar 9,44 mmol Fe(II)/100 g.

Kata Kunci: Nyireh, Total Fenolik, Antioksidan, FRAP

PENDAHULUAN

Senyawa fenolat adalah senyawa yang memiliki sekurang kurangnya satu gugus fenol (Vermerris and Nicholson 2007). Fenolat terdapat pada bagian buah, akar, daun, dan kulit luar batang (Lumbessy, 2013). Senyawa fenolat dapat berefek farmakologi di antaranya adalah antioksidan dan penangkal radikal bebas sehingga mampu meredam dampak negative oksidan. Antioksidan bekerja dengan mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa yang bersifat oksidan (Winarti 2010)

Salah satu tanaman yang mengandung senyawa fenolat adalah nyireh (*Xylocarpus granatum* J.Koenig). Nyireh merupakan tanaman yang sering digunakan oleh masyarakat untuk mengatasi masalah kesehatan. Kandungan zat aktif yang terdapat pada nyireh yaitu triterpenoid, alkaloid, fenolat dan steroid (Baba et al. 2016). Tanaman nyireh di Asia Tenggara digunakan sebagai obat tradisional untuk pengobatan diare, kolera dan malaria (Champagne et al. 1992).

Pada penelitian sebelumnya diketahui khasiat yang terkandung pada kulit batang nyireh sebagai antibakteri (SHAHID-UD-DAULA and BASHER 2009). Ekstrak Etanol kulit batang *Xylocarpus granatum J.Koenig* mampu menghambat pertumbuhan enam dari sepuluh spesies bakteri termasuk yang paling rentan diantaranya adalah *Staphylococcus epidermis* dan *Shigella boydii* (Alam et al. 1970). Adapun senyawa triterpenoid yang terkandung pada kulit batang *Xylocarpus granatum J.Koenig* dapat menghambat pertumbuhan sel kanker kolon CaCO-2 dan memiliki aktivitas antidiare pada

tikus yang diinduksi oleh minyak jarak dan magnesium sulfat (Rouf et al. 2007). Karena banyaknya khasiat yang terkandung pada nyireh maka peneliti tertarik untuk mengetahui kadar fenolat total yang terkandung pada nyireh sebagai aktivitas antioksidan yang dapat berguna bagi tubuh.

Metode standar yang digunakan dalam penentuan kandungan fenolat adalah Folin Ciocalteu dengan asam galat sebagai senyawa standarnya (Saifuddin et al. 2011). Folin-Ciocalteu merupakan metode yang sudah digunakan bertahun tahun untuk menghitung kadar fenol total dari produk alam. Adapun untuk menguji aktivitas antioksidan dapat menggunakan berbagai macam metode, salah satunya adalah metode FRAP.

Metode FRAP atau Ferric Reducing Antioxidant Power adalah salah satu metoda penentuan kandungan antioksidan secara spektrofotometri (Pisoschi and Negulescu 2012). Metode ini dapat menentukan kandungan antioksidan total dari suatu bahan berdasarkan kemampuan senyawa antioksidan untuk mereduksi ion Fe^{3+} menjadi ion Fe^{2+} . Kelebihan dari metode FRAP ini yaitu metodenya murah, reagensinya mudah disiapkan, sederhana dan cepat (Benzie and Strain 1996).

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan antara lain, kulit batang nyireh, n-heksan, etil asetat, etanol, reagen Folin Ciocalteu, natrium karbonat, ortho-fenantrolin, asam askorbat, besi (III) klorida heksahidrat, besi (II) sulfat heptahidrat, natrium

asetat trihidrat, asam galat, asam asetat, FeCl_3 , dan aquadest.

Alat yang digunakan diantaranya adalah Spektrofotometer UV-Vis (*Shimadzu 1800*), timbangan analitik (*Kenko*), rotary evaporator (*Heidolph*), corong, mikropipet (*Pyrex*), pipet volume (*Pyrex*), gelas ukur (*Iwaki*), labu ukur (*Iwaki*), spatel, kaca arloji (*Pyrex*), batang pengaduk, pipet tetes (*Pyrex*), pipet ukur (*Pyrex*), beker glass (*Pyrex*).

Pengambilan Sampel

Sampel yang digunakan adalah kulit batang nyireh (*Xylocarpus granatum* J.Koenig) yang diambil di daerah Bulang Lintang Batam.

Penyiapan Sampel

Serbuk kulit batang diambil 500 gram dimaserasi berturut-turut dengan pelarut n-heksan, etil asetat, dan kemudian etanol 70% dengan perbandingan 1:6. Rendam selama 6 jam pertama sambil sesekali diaduk, kemudian diamkan selama 18 jam. Pisahkan maserat dengan cara filtrasi lalu kumpulkan semua maserat. Maserat yang diperoleh dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40°C sehingga diperoleh ekstrak kental. Hitung nilai rendemen dan di uji fenolatnya (Anonim, 2008)

Analisis Kualitatif

Sejumlah ekstrak sampel diteteskan larutan FeCl_3 kemudian diamati perubahan warnanya. Etanol yang direaksikan dengan FeCl_3 akan membentuk suatu kompleks yang dapat mengubah warna larutan

Penetapan kadar fenolat total ekstrak kulit batang nyireh

Kurva kalibrasi asam galat dengan reagen Fenol Folin-Ciocalteu. Larutan induk asam galat dipipet 6, 8, 10, 12, 14 ml dan diencerkan dengan aquadest sampai volume 100 ml sehingga dihasilkan konsentrasi 300, 400, 500, 600, dan 700 ppm asam galat. Masing-masing konsentrasi di atas dipipet 0,2 ml ditambah 15,8 ml aquadest ditambah 1 ml reagen Folin Ciocalteu lalu dikocok. Diamkan selama 8 menit tambah 3 ml larutan Na_2CO_3 kocok homogen. Diamkan selama

2 jam pada suhu kamar. Ukur serapan pada panjang gelombang maksimum 765 nm dan buat kurva baku kalibrasinya hubungan antara konsentrasi asam galat dengan absorban.

Penentuan kandungan fenol total dengan metode Folin-Ciocalteu (Orak, 2006). Ditimbang 10 mg ekstrak kemudian dilarutkan sesuai dengan pelarutnya masing masing dalam labu 10 ml. Ambil 0,2 ml larutan ekstrak tambahkan 15,8 ml aquadest, tambahkan 1 ml reagen Folin-Ciocalteu kocok. Diamkan selama 8 menit kemudian tambahkan 3 ml Na_2CO_3 20% kedalam campuran dan diamkan larutan selama 2 jam pada suhu kamar. Diukur serapannya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang serapan maksimum 765 nm berwarna kompleks biru. Lakukan 3 kali pengulangan sehingga kadar enol yang diperoleh hasilnya didapat sebagai mg ekuivalen asam galat/kg sampel segar.

Penentuan Aktivitas Antioksidan

Penentuan panjang gelombang serapan maksimum larutan $\text{Fe}(\text{II})$ 10 mmol/L.

Dipipet 5 mL dapar asetat 0,3 M pH 3,6 lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Pipet 0,5 mL larutan standar besi (II) sulfat heptahidrat dengan konsentrasi 0,1 mmol/L dan ditambahkan larutan ortho-fenantrolin 10 mmol sebanyak 0,5 mL lalu masukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi larutan dapar asetat. Biarkan selama 30 menit di tempat yang gelap, lalu tentukan panjang gelombang serapan maksimum.

Sebanyak 100 μL larutan sampel dan 300 μL air suling ditambahkan ke dalam tabung yang telah berisi 3 mL reagen FRAP. Campuran divortek dan di inkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit di tempat gelap pada suhu ruang. Absorban sampel diukur pada panjang gelombang 510,5 nm. Larutan reagen FRAP dengan air suling tanpa sampel digunakan sebagai larutan blanko. Dilakukan tiga kali pengulangan sehingga aktivitas antioksidan sampel yang diperoleh dinyatakan dalam besi (II) ekuivalen (Fe^{+2} mmol) menggunakan kurva

standar $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,08; 0,09; 0,1; 0,2; dan 0,3 mmol/L.
 Larutan Pembanding Asam Askorbat

Asam Askorbat ditimbang 25 mg dimasukkan dalam labu ukur 25 mL, ditambahkan aquadest hingga tanda batas.

HASIL

Tabel 1. Hasil Ekstraksi Kulit Batang Nyireh

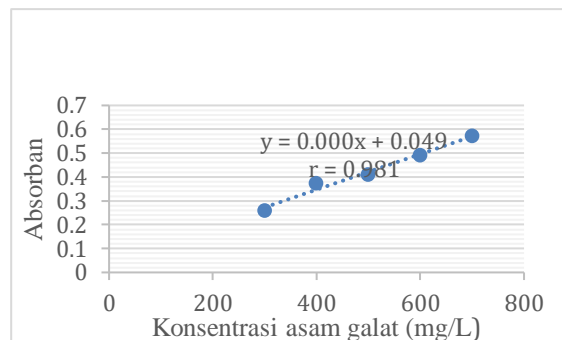
Sampel	Berat Kering (g)	Berat Ekstrak (g)	Rendemen (%)
EEKBN	500 g	48,560 g	9,712 %
EEAKBN	500 g	38,62 g	7,724 %
EHKBN	500 g	32,24 g	6,448 %

Keterangan: EEKBN (Ekstrak Etanol Kulit Batang Nyireh), EEAKBN (Ekstrak Etil Asetat Kulit Batang Nyireh), EHKBN (Ekstrak N-Heksan Kulit Batang Nyireh).

Tabel 2. Uji Kualitatif Ekstrak Kulit Batang Nyireh

Sampel	Fenolat	Deskripsi
EEKBN	+	Biru Kecoklatan
EEAKBN	+	Biru Kecoklatan
EHKBN	-	Kuning Kecoklatan

Keterangan: EEKBN (Ekstrak Etanol Kulit Batang Nyireh), EEAKBN (Ekstrak Etil Asetat Kulit Batang Nyireh), EHKBN (Ekstrak N-Heksan Kulit Batang Nyireh).



Gambar 1. Kurva Kalibrasi Asam Galat

Tabel 3. Kurva Baku Asam Galat

Konsentrasi (mg/L)	Absorban
300	0.259
400	0.374
500	0.410
600	0.492
700	0.572

Tabel 4. Kadar Fenolat Total Ekstrak Kulit Batang Nyireh

Sampel	Rpl	Abs	Kons (mg/L)	Kadar Total Fenolat (%)	Kadar Rata Rata (%)
EHKBN	1	0,092	60,857	6,085	6,418
	2	0,098	69,428	6,942	
	3	0,093	62,285	6,228	
EEAKBN	1	0,353	433,710	43,371	43,275
	2	0,350	429,428	42,942	
	3	0,354	435,142	43,514	
EEKBN	1	0,220	243,710	24,371	24,752
	2	0,225	250,850	25,085	
	3	0,223	248,000	24,800	

Keterangan: EEKBN (Ekstrak Etanol Kulit Batang Nyireh), EEAKBN (Ekstrak Etil Asetat Kulit Batang Nyireh), EHKBN (Ekstrak N-Heksan Kulit Batang Nyireh), Rpl (Replikasi), Abs (Absorbansi), Kons (Konsentrasi).

Tabel 5. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Batang Nyireh

Sampel	Abs	Rata-Rata	Konsentrasi (mmol/L)	Aktivitas Antioksidan (mmol Fe (II)/100 g)
EEKBN	0,251	0,252	0,0555	2,98
	0,252			
	0,255			
EEAKBN	0,429	0,431	0,1105	9,44
	0,431			
	0,434			
EHKBN	0,090	0,095	0,0072	0,533
	0,098			
	0,097			
Vit. C	0.520	0.523	0.1387	1.849
	0.528			
	0.523			

Keterangan: EEKBN (Ekstrak Etanol Kulit Batang Nyireh), EEAKBN (Ekstrak Etil Asetat Kulit Batang Nyireh), EHKBN (Ekstrak N-Heksan Kulit Batang Nyireh), Abs (Absorbansi).

PEMBAHASAN

Metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 70 %, etil asetat, dan n-heksan. Cara ini merupakan metode yang mudah dilakukan dan menggunakan alat sederhana dengan cara merendam sampel dalam berbagai jenis pelarut yang berbeda-beda. Ekstraksi dengan pelarut n-heksan, etil asetat dan etanol 70% mampu memisahkan senyawa senyawa yang penting dalam suatu bahan.

Pada prinsipnya suatu bahan akan mudah larut dalam pelarut yang sama polaritasnya. Ekstraksi bertingkat akan menghasilkan senyawa tertentu yang terekstrak secara spesifik pada tiap pelarut yang digunakan. Pelarut polar akan menarik senyawa yang bersifat polar, sedangkan

pelarut non-polar akan menarik senyawa non-polar dan pelarut semi polar akan menarik senyawa polar. Komponen yang akan ditarik pada kulit batang nyireh adalah fenolat. Semua filtrat yang diperoleh setelah melalui proses perendaman selanjutnya di uapkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 40°C hingga di dapatkan ekstrak kental.

Ekstrak kental yang telah didapat kemudian ditimbang bobotnya. Sehingga diperoleh ekstrak kental etanol 70% sebanyak 48,560 gram, ekstrak kental etil asetat sebanyak 38,62 gram, dan ekstrak kental n-heksan sebanyak 32,2 gram dari 500 gram kulit batang Nyireh.

Pada penelitian ini, diperoleh panjang gelombang absorbansi maksimum dari larutan standar asam galat (5 mg/mL) sebesar 765,0 nm.

Pembuatan kurva baku bertujuan untuk mengetahui hubungan antara konsentrasi asam galat dengan absorbansi. Hasil pengukuran selengkapnya dapat di lihat pada tabel berikut.

Berdasarkan data yang didapat dibuat kurva hubungan antara konsentrasi larutan standar asam galat dengan absorbansi dan dicari persamaan regresi linier. Pada penelitian ini diperoleh nilai $r = 0,9981$ dengan persamaan regresi $y = 0,0385 + 0,000771x$. Nilai koefisien r hampir mendekati 1 yang berarti hubungan yang linear antara konsentrasi Besi (II) Heptahidrat dengan absorbansi yang dihasilkan. Persamaan regresi yang didapat kemudian akan digunakan dalam menentukan nilai kadar ekstrak kulit batang Nyireh. Ekstrak kulit batang Nyireh diukur absorbansinya untuk kemudian digunakan dalam menghitung kadar fenolatnya.

Larutan sampel ekstrak direaksikan dengan pereaksi Folin-Ciocalteu dan diukur serapannya pada panjang gelombang 765 nm. Dari nilai serapan yang diperoleh, kadar fenol total masing masing sampel data dihitung dengan menggunakan persamaan regresi linear asam galat yang didapatkan sebelumnya. Hasil penentuan kadar fenolat total menggunakan persamaan regresi linear didapatkan kadar rata rata dalam ekstrak etanol kulit batang nyireh sebesar 24,752%, ekstrak etil asetat 43,275%, dan ekstrak n-heksan sebesar 6,418%. Maka hasil pengujian diketahui bahwa nilai tertinggi kadar fenolat yang terkandung dalam ekstrak kulit batang nyireh adalah nilai pada ekstrak etil asetat. Senyawa fenolat umumnya lebih mudah diekstrak oleh pelarut organik yang bersifat semi polar dan polar.

Metode yang digunakan dalam pengujian aktivitas antoksidan adalah metoda FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*). Metoda ini dapat menentukan kandungan total antioksidan dari suatu bahan berdasarkan kemampuan senyawa antioksidan mereduksi ion Fe^{3+} menjadi Fe^{2+} sehingga kekuatan antioksidan suatu senyawa dianalogikan dengan kemampuan mereduksi dari

senyawa tersebut. Pengukuran aktivitas antioksidan sampel dilakukan pada panjang gelombang 510,5 nm yang merupakan panjang gelombang maksimum Fe (II) dengan konsentrasi 0,09 mmol/L pada spektrofotometer UV-Vis sehingga didapatkan nilai berupa absorbansi. Setelah didapatkan nilai absorbansi maksimum, sampel kemudian dihitung total antioksidan dengan cara dimasukkan dalam persamaan regresi kurva standar $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ dengan persamaan $y = 0,0713 + 3,255x$.

Hasil penelitian aktivitas antioksidan ekstrak etanol sebesar 2,98 mmol/100 g, ekstrak etil asetat sebesar 9,44 mmol/100 g, dan ekstrak n-heksan sebesar 0,53 mmol/100 g. Dari hasil yang didapatkan setelah dibandingkan dengan aktivitas antioksidan asam askorbat yaitu 1,849 mmol $Fe(II)/100$ g maka hasil aktivitas antioksidan ekstrak etanol dan ekstrak etil asetat lebih besar dibandingkan aktivitas antioksidan asam askorbat. Sedangkan aktivitas antioksidan ekstrak n-heksan lebih rendah dibandingkan asam askorbat.

Besarnya angka antioksidan tersebut erat hubungannya dengan kandungan fenolat. Semakin banyak senyawa fenolat yang terkandung maka semakin besar pula total aktivitas antioksidannya. Besarnya kandungan total aktivitas antioksidan pada sampel ekstrak kulit batang Nyireh menunjukkan bahwa proses preparasi sampel sangat berkaitan erat pada proses antioksidan. Diketahui ekstrak etil asetat kulit batang nyireh memiliki aktivitas antioksidan yang lebih besar ketimbang ekstrak etanol dan ekstrak n-heksan.

KESIMPULAN

Kadar total fenolat ekstrak kulit batang nyireh (*Xylocarpus granatum* J.Koenig) adalah 24,752%, ekstrak etil asetat 43,275% dan ekstrak n-heksan sebesar 6,418%. Ekstrak kulit batang nyireh memiliki aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol sebesar 2,98 mmol $Fe(II)/100$ g, ekstrak

etil asetat 9,44 mmol Fe(II)/100 g, dan ekstrak n-heksan sebesar 0,53 mmol Fe(II)/100 g.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terimakasih kepada semua pihak yang telah membantu jalannya penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Alam, MA, M. Sarder, MA Awal, MMH Sikder, and KA Daulla. 1970. "Antibacterial Activity of the Crude Ethanolic Extract of *Xylocarpus Granatum* Stem Barks." *Bangladesh Journal of Veterinary Medicine* 4(1):69–72. doi: 10.3329/bjvm.v4i1.1529.
- Baba, Shigeyuki, Hung Chan, Mami Kainuma, Mio Kezuka, Eric Chan, and Joseph Tangah. 2016. "Botany, Uses, Chemistry and Bioactivities of Mangrove Plants III: *Xylocarpus Granatum*." *ISME/GLOMIS Electronic Journal* 14:1–4.
- Benzie, I. F., and J. J. Strain. 1996. "The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of 'Antioxidant Power': The FRAP Assay." *Analytical Biochemistry* 239(1):70–76. doi: 10.1006/abio.1996.0292.
- Champagne, Donald E., Opende Koul, Murray B. Isman, Geoffrey G. E. Scudder, and G. H. Neil Towers. 1992. "Biological Activity of Limonoids from the Rutales." *Phytochemistry* 31(2):377–94. doi: [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(92\)90003-9](https://doi.org/10.1016/0031-9422(92)90003-9).
- Pisoschi, Aurelia Magdalena, and Gheorghe Petre Negulescu. 2012. "Methods for Total Antioxidant Activity Determination: A Review." *Biochemistry & Analytical Biochemistry* 01(01):1–10. doi: 10.4172/2161-1009.1000106.
- Rouf, Razina, Shaikh Jamal Uddin, Jamil Ahmad Shilpi, and Mahiuddin Alamgir. 2007. "Assessment of Antidiarrhoeal Activity of the Methanol Extract of *Xylocarpus Granatum* Bark in Mice Model." *Journal of Ethnopharmacology* 109(3):539–42. doi: 10.1016/j.jep.2006.08.015.
- Saifuddin, N., C. Y. Nian, L. W. Zhan, and K. X. Ning. 2011. "Chitosan-Silver Nanoparticles Composite as Point-of-Use Drinking Water Filtration System for Household to Remove

Pesticides in Water." *Asian Journal of Biochemistry* 6(2):142–59.

- SHAHID-UD-DAULA, A., and MOHAMMAD BASHER. 2009. "Phytochemical Screening, Plant Growth Inhibition, and Antimicrobial Activity Studies of *Xylocarpus Granatum*." *Malaysian Journal of Pharmaceutical Sciences* 7.
- Vermeris, Wilfred, and Ralph Nicholson. 2007. *Phenolic Compound Biochemistry*. Springer Science & Business Media.
- Winarti, Sri. 2010. *Makanan Fungsional*. 1st ed. Yogyakarta: Graha Ilmu.