

PENGARUH VARIASI KONSENTRASI CAIRAN PENYARI ETANOL TERHADAP KADAR POLIFENOL PADA DAUN BIDURI (*Calotropis gigantea* L.)

Asriani Suhaenah

Fakultas Farmasi Universitas Muslim Indonesia, Makassar
Email : asriani.suhaenah@umi.ac.id

ABSTRACT

Effect of ethanol concentration variations on levels of polyphenols in the Biduri leaves extract (Calotropis gigantea L.), with the aim to determine the concentration of ethanol that produce high levels of polyphenols maximum on Biduri leaves extract (Calotropis gigantea L.). The method used in the form of laboratory experimental method, which leaves Biduri (Calotropis gigantea L.) is made in the form of extracts by using a variation of ethanol that is 50% ethanol, 70% and 96%, then the variation of the extract polyphenols quantitative test conducted using standard gallat acid and Folin -ciocalteau reagen with UV-VIS spectrophotometry method. The results of quantitative analysis by UV-VIS spectrophotometry method at the maximum wavelength 730 nm, obtained polyphenol content of 50% ethanol to extract mgGAE 11.14 / gram extract, 70% ethanol extract mg GAE 16.20 / gram extract, and 96% ethanol extract 11 , 72 mgGAE / gram of extract. Maximum levels of polyphenols contained in the ethanol extract with a concentration of 70%. Based on statistical analysis, the results obtained polyphenol content of ethanol Biduri leaves extract (Calotropis gigantea L.) with the third variation of the concentration that is 50%, 70%, and 96% were significantly different.

Keywords : Ethanol extract, Spectrophotometry UV-Vis, Total Polyphenols, Biduri leaves (*Calotropis gigantea* L.).

PENDAHULUAN

Sumber daya alam yang ada di Indonesia dari dulu sampai sekarang masih tetap kaya di mata dunia dan pada hakekatnya sumber daya ini bagi sebagian masyarakat Indonesia digunakan sebagai obat tradisional. Bangsa Indonesia sudah lama mengenal serta menggunakan tanaman obat berkhasiat sebagai salah satu upaya untuk

menanggulangi masalah kesehatan. Pengetahuan tentang tanaman obat yang berkhasiat berdasar pada pengalaman yang telah diwariskan dari satu generasi ke generasi berikutnya.¹

Perkembangan teknologi dan bentuk pemanfaatan tumbuhan obat di Indonesia dalam pelayanan kesehatan sudah mengenal serta menggunakan konsep ekstrak. Iptek kefarmasian

telah berkembang pula pada bidang ekstraksi, sehingga dapat menerima ekstrak sebagai bentuk bahan yang dapat dipertanggungjawabkan mutu kandungan kimianya.²

Salah satu yang digunakan sebagai obat tradisional adalah tanaman biduri (*Calotropis gigantea L.*). Biasanya tumbuh di tanah yang kurang subur, tersebar diberbagai daerah di Indonesia. Tumbuhan biduri (*Calotropis gigantea L.*) merupakan tanaman yang banyak dimanfaatkan sebagai pengobatan, bagian yang dimanfaatkan adalah bagian daun, batang, ataupun akarnya. Daunnya berkhasiat mengobati kudis, luka, borok, sariawan, gatal pada cacar air (*varicella*), campak (*measles*), demam, batuk, rubifisien dan menghilangkan gatal. Kandungan kimia pada daun diantaranya: flavonoid, polifenol, tannin, dan kalsium oksalat serta saponin.³

Polifenol adalah kelompok senyawa kimia yang diperoleh dari kulit, batang, akar, daun dan buah berbagai tanaman.⁴

Istilah senyawa fenol meliputi aneka ragam senyawa yang berasal dari tumbuhan yang mempunyai ciri sama yaitu cincin aromatik yang mengandung satu atau dua penyuluh hidroksil. Senyawa fenol cenderung

mudah larut dalam air karena pada umumnya sering berikatan dengan gula sebagai glikosida, biasanya terdapat dalam vakuola sel.⁵

Polifenol merupakan senyawa turunan fenol yang mempunyai aktivitas sebagai antioksidan. Antioksidan fenolik biasanya digunakan untuk mencegah kerusakan akibat reaksi oksidasi pada makanan, kosmetik, dan farmasi. Fungsi polifenol sebagai penangkap dan pengikat radikal bebas dari rusaknya ion-ion logam. Kelompok tersebut sangat mudah larut dalam air dan lemak.⁶

Semua senyawa fenol berupa senyawa aromatik sehingga semuanya menunjukkan serapan kuat di daerah spektrum UV. Selain itu, secara khas senyawa fenol menunjukkan geseran batokrom pada spektrumnya ditambahkan basa. Karena itu, cara spektrofotometri penting terutama untuk diidentifikasi dan analisis kuantitatif senyawa fenol.⁵

METODE PENELITIAN

Alat-alat yang digunakan

Alat yang digunakan yaitu batang pengaduk, aluminium foil, blender, corong buchner, cawan porselen, Erlenmeyer, gelas ukur, kertas saring whatman, labu ukur, mikropipet, pemanas listrik, seperangkat alat maserasi,

Pengaruh variasi konsentrasi cairan penyari etanol terhadap kadar polifenol pada daun biduri (Calotropis gigantea L.)

seperangkat alat rotavapor, spektrofotometri UV-Vis, timbangan analitik.

Bahan-bahan yang digunakan

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah: aquadest, asam galat, ekstrak daun biduri (*Calotropis gigantea* (L)), etanol 50%, etanol 70%, etanol 96%, Reagen Folin Ciocalteau, natrium karbonat.

Prosedur kerja

Pengambilan dan pengolahan sampel

Pengambilan sampel daun biduri (*Calotropis gigantea* (L.)) dilakukan pada pagi hari sekitar pukul 08.00 - 10.00 WITA di kota Makassar, dengan cara mengambil daun yang masih segar secara manual, kemudian dibersihkan dari kotoran-kotoran yang menempel dengan menggunakan air yang mengalir dan dikeringkan pada suhu kamar dengan cara diangin-anginkan tanpa terkena sinar matahari \pm 1 minggu. Setelah kering sampel dipotong-potong kecil dan diserbukkan menggunakan blender untuk memperoleh luas permukaan yang lebih besar agar proses penetrasi pelarut ke dalam bahan dapat berlangsung dengan optimal.

Ekstraksi dengan pelarut etanol

Daun biduri (*Calotropis gigantea* L.) di timbang masing 50

gram, kemudian dimaserasi menggunakan pelarut etanol 50% , etanol 70% dan etanol 96%, pada suhu ruang selama 3X24 jam, dan dimasukkan kedalam wadah yang tertutup rapat dan terlindung dari sinar matahari sambil diaduk. Hasil maserasi disaring, kemudian hasil penyarian tersebut masing-masing dikeringkan pada suhu kamar dengan cara diangin-anginkan hingga diperoleh ekstrak kering.

Pengukuran Kandungan Total Polifenol

Pembuatan Larutan Stok Natrium Karbonat 7%

Ditimbang sebanyak 3.5 gram Na_2CO_3 kemudian dilarutkan dengan aquades steril hingga 50 mL

Penetapan Kadar Fenolik Total

Pembuatan larutan standar asam galat

Larutan standar asam galat 1000 ppm dibuat dengan menimbang 10 mg asam galat, dilarutkan dengan etanol 96% hingga volume 10 mL. Dari larutan stock dipipet sebanyak 0,25 mL diencerkan dengan etanol 96% hingga volume 25 mL hingga dihasilkan konsentrasi 10 ppm kemudian di buat konsentrasi 1,2,3,dan 4 ppm.

Pengukuran sampel Daun Biduri (*Calotropis gigantea* L.)

Pengaruh variasi konsentrasi cairan penyari etanol terhadap kadar polifenol pada daun biduri (Calotropis gigantea L.)

Penentuan Panjang Gelombang Maksimal (λ maks)

Panjang gelombang maksimum asam galat dilakukan dengan merunning larutan asam galat 1 ppm pada range panjang gelombang 710-755 nm. Absorbansi maksimum yang diperoleh pada panjang gelombang tertentu merupakan panjang gelombang maksimum asam galat.

Pengukuran larutan standar asam galat

Dipipet larutan asam galat masing-masing 1,2,3 dan 4 mL dari konsentrasi 10 ppm, lalu masing-masing ditambahkan dengan 0,4 mL reagen *Folin-Ciocalteu* dikocok dan dibiarkan 4-8 menit, tambahkan 4,0 mL larutan Na_2CO_3 7% kocok hingga homogen. Tambahkan aquades hingga 10 mL dan diamkan selama 2 jam pada suhu ruangan. Ukur serapan pada panjang gelombang serapan maksimum 730 nm, lalu dibuat kurva kalibrasinya, hubungan antara konsentrasi asam galat (mg/L) dengan absorbansi

Pembuatan larutan sampel ekstrak etanol daun biduri (*Calotropis gigantea L*)

Larutan ekstrak etanol 50%, 70%, dan 96% daun biduri (*Calotropis*

gigantea L) dibuat dengan cara menimbang 10,0 mg ekstrak kemudian dilarutkan dengan 10 mL etanol 96%.

Penetapan fenolik total ekstrak etanol daun biduri (*Calotropis gigantea L*)

Dipipet sebanyak 1 mL larutan ekstrak etanol 50% daun biduri (*Calotropis gigantea L*), kemudian ditambahkan 0,4 mL reagen *Folin-Ciocalteu* dikocok dan dibiarkan 4-8 menit, tambahkan 4,0 mL larutan Na_2CO_3 7% kocok hingga homogeny. Tambahkan aquades hingga 10 mL dan diamkan selama 2 jam pada suhu ruangan. Ukur serapan pada panjang gelombang serapan maksimum 730 nm yang akan memberikan kompleks biru, dilakukan 3 kali pengulangan sehingga kadar fenolik yang diperoleh hasilnya didapat sebagai mg ekuivalen asam galat/g ekstrak. Perlakuan yang sama dilakukan untuk ekstrak etanol 70% dan ekstrak etanol 96%.⁶

Pengumpulan Dan Analisis Data

Analisis data terlebih dahulu dilakukan dengan metode kurva standar, regresi linear $y = bx + a$ dibuat berdasarkan absorbansi dan konsentrasi dari larutan standar.

HASIL PENELITIAN

Tabel 1. Hasil Pengukuran absorbansi larutan standar asam galat pada panjang gelombang 730 nm.

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi
1	0,087
2	0,256
3	0,489
4	0,704

Tabel 2. Hasil penetapan kadar fenol total %(b/b) pada ekstrak etanol 50%, 70%, dan 96% daun biduri (*Calotropis gigantea* L.).

Ekstrak	Rep.	Absorbansi (Y)	Kandungan polifenol awal (mg/mL)	Kandungan total fenol (mg GAE/g eks)	Rata-rata kandungan fenol
Etanol 50%	I	0,112	1,197	11,97	11,140
	II	0,088	1,082	10,82	
	III	0,084	1,063	10,63	
Etanol 70%	I	0,217	1,702	17,02	16,203
	II	0,171	1,481	14,81	
	III	0,212	1,678	16,78	
Etanol 96%	I	0,104	1,159	11,59	11,716
	II	0,107	1,173	11,73	
	III	0,109	1,183	11,83	

PEMBAHASAN

Tumbuhan biduri (*Calotropis gigantea* L.) merupakan tanaman yang banyak dimanfaatkan sebagai pengobatan, bagian yang dimanfaatkan adalah bagian daun, batang, ataupun akarnya. Daunnya berkhasiat mengobati kudis, luka, borok, sariawan, gatal pada cacar air (*varicella*), campak (*measles*), demam, batuk, rubifisien dan menghilangkan gatal. Kandungan kimia pada daun diantaranya: flavonoid, polifenol, tannin, dan kalsium oksalat serta saponin.

Polifenol adalah fitonutrien, atau terkadang disebut sebagai fitokimia

atau nutrasetikal, dan semakin banyak digunakan sebagai suplemen bahan makanan atau dalam makanan yang awet. Polifenol merupakan zat umum ditemukan dalam kingdom tanaman.⁴

Istilah senyawa fenol meliputi aneka ragam senyawa yang berasal dari tumbuhan yang mempunyai ciri sama yaitu cincin aromatik yang mengandung satu atau dua penyuluh hidroksil. Senyawa fenol cenderung mudah larut dalam air karena pada umumnya sering berikatan dengan gula sebagai glikosida, biasanya terdapat dalam vakuola sel. Ribuan senyawa fenolik di alam telah

Pengaruh variasi konsentrasi cairan penyari etanol terhadap kadar polifenol pada daun biduri (Calotropis gigantea L.)

diketahui strukturnya antara lain flavanoid, fenol monosiklik sederhana, fenil propanoid, polifenol (pignin, melanin, tannin) dan kuinon fenolik.⁸

Metode ekstraksi yang digunakan pada penelitian ini adalah maserasi. Dimana ekstraksi merupakan salah satu langkah awal dalam melakukan pembuatan ekstrak, metode ini juga sederhana, mudah dan tidak menggunakan proses pemanasan serta dilihat dari simplisia yang digunakan berupa daun yang memiliki tekstur lunak.

Keuntungan cara penyarian dengan maserasi adalah cara pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana dan mudah diusahakan. Kerugian cara maserasi adalah pengerjaannya lama dan penyariannya kurang sempurna.

Penyarian dengan maserasi, diperlukan pengadukan untuk meratakan konsentrasi larutan di luar butir serbuk simplisia, sehingga dengan pengadukan tersebut tetap terjaga adanya derajat perbedaan konsentrasi yang sekecil-kecilnya antar larutan di dalam sel dengan larutan di luar sel.⁹

Dalam penelitian ini digunakan variasi konsentrasi pelarut etanol dengan Tujuan untuk menentukan konsentrasi etanol yang menghasilkan

kadar polifenol yang maksimal pada ekstrak daun Biduri (*Calotropis gigantea* L.) Penetapan kandungan polifenol berdasarkan metode *Folin-Ciocalteu* (FC), yang merupakan metode yang paling umum digunakan untuk menentukan fenolik total. Dalam penelitian ini dipilih metode *Folin-Ciocalteu* (FC) dengan pertimbangan bahwa teknik ini lebih mudah dan cara pengerjaannya sederhana.¹⁰

Untuk menentukan kadar senyawa polifenol pada sampel digunakan asam galat sebagai larutan standar. Digunakan asam galat sebagai larutan standar karena merupakan salah satu fenol alami yang memiliki efek antioksidan yang kuat. Dimana asam galat merupakan senyawa fenolik turunan dari asam hidroksibenzoat yang tergolong asam fenol sederhana. Tambahan pula, pilihan asam galat sebagai standar didasarkan atas ketersediaan substansi yang stabil dan lebih reaktif.¹¹

Pereaksi *Folin-Ciocalteu* , mengoksidasi fenolat (garam alkali) atau gugus fenolik-hidroksi mereduksi asam heteropoli (fosfomolibdat-fosfotungstat) yang terdapat dalam pereaksi *Folin-Ciocalteu* menjadi suatu kompleks molybdenum-tungsten. Senyawa fenolik bereaksi

Pengaruh variasi konsentrasi cairan penyari etanol terhadap kadar polifenol pada daun biduri (Calotropis gigantea L.)

dengan reagen *Folin-Ciocalteu* hanya dalam suasana basa agar terjadi disosiasi proton pada senyawa fenolik menjadi ion fenolat. Untuk menciptakan kondisi basa digunakan Na_2CO_3 7%, selama reaksi berlangsung, gugus hidroksil pada senyawa fenolik bereaksi dengan pereaksi *Folin-Ciocalteu*, membentuk kompleks molybdenum-tungsten berwarna biru dan dapat dideteksi dengan spektrofotometer. Warna biru yang terbentuk akan semakin pekat, setara dengan konsentrasi ion fenolat yang terbentuk, artinya 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.¹²

Pada saat penambahan pereaksi terjadi pergeseran merah atau efek batokromik yang dimana merupakan pergeseran serapan maksimum ke panjang gelombang yang lebih panjang. Hal ini dapat disebabkan oleh perubahan pelarut atau adanya suatu auksokrom, bertambah besarnya panjang gelombang pada senyawa fenolik sehingga dapat diukur di daerah visible.

Asam galat direaksikan dengan reagen *Folin-Ciocalteu* akan menghasilkan warna kuning yang menandakan bahwa mengandung fenol, setelah itu ditambahkan dengan larutan Na_2CO_3 menghasilkan warna biru. Intensitas warna biru ditentukan dengan banyaknya kandungan fenol dalam larutan sampel, semakin besar konsentrasi senyawa fenolik dalam sampel semakin pekat warna biru yang terlihat, penambahan Na_2CO_3 pada uji fenolik bertujuan untuk membentuk suasana basa agar terjadi reaksi reduksi *Folin-Ciocalteu* oleh gugus hidroksil dari fenolik di dalam sampel.¹³

Pada pengukuran senyawa polifenol pada sampel ekstrak etanol 50%, sampel ditimbang sebanyak 10 mg dilarutkan dalam 10 mL etanol 96%, di pipet 1 mL dan ditambahkan 0,4 mL reagen folin-ciocalteau, kemudian didiamkan selama 8 menit, kemudian ditambah 4 mL Na_2CO_3 7% dan dicukupkan dengan aquades hingga 10 mL sehingga didapatkan larutan ekstrak etanol 50% berwarna biru bening, di inkubasi selama 2 jam dan diukur absorbansi larutan pada serapan maksimum 730 nm dengan spektrofotometri UV-VIS, dan didapatkan absorbansi dari sampel, lalu diplotkan nilai absorbansi sampel

Pengaruh variasi konsentrasi cairan penyari etanol terhadap kadar polifenol pada daun biduri (Calotropis gigantea L.)

kedalam persamaan garis linear yang dihasilkan pada pengukuran larutan standar asam galat. Perlakuan yang sama dilakukan untuk ekstrak etanol 70% dan ekstrak etanol 96%.

Hasil pengukuran absorbansi larutan standar asam galat yang diperoleh dimasukkan ke dalam Microsoft excel untuk mendapatkan kurva kalibrasi larutan standar asam galat berupa grafik kurva konsentrasi (C) versus absorbansi(A). Berdasarkan gambar dapat dilihat bahwa kurva kalibrasi dengan persamaan regresi untuk absorbansi asam galat yaitu sebesar $y = 0,208x - 0,137$; larutan standar senyawa polifenol diperoleh, hubungan yang linear antara absorbansi dengan konsentrasi. Pada pengukuran absorbansi yang ditunjukkan dengan nilai koefisien korelasi (r) sebesar 0,996, nilai (r) ini mendekati angka 1 yang menunjukkan bahwa persamaan regresi tersebut adalah linier.

Persamaan kurva tersebut dapat digunakan sebagai pembanding untuk menentukan konsentrasi senyawa polifenol yang terdapat pada ekstrak etanol 50%,70% dan 96%. Pada penelitian ini kandungan polifenol ditentukan berdasarkan penentuan absorbansi sampel dimana untuk ekstrak etanol 50% yang

diperoleh dari tiga kali pengukuran yaitu 0,112 ; 0,088; dan 0,084, sedangkan untuk ekstrak etanol 70% yang diperoleh 0,217; 0,171; dan 0,212. Selanjutnya untuk ekstrak etanol 96% diperoleh absorbansi 0,104; 0,107 dan 0, 109. Dari nilai absorbansi dapat diketahui nilai konsentrasi polifenol yang terdapat pada ekstrak etanol daun biduri (*Calotropis gigantea L.*) dengan menggunakan persamaan regresi linier dari kurva konsentrasi standar asam galat. Hasil analisis kuantitatif berdasarkan metode spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum 730 nm, diperoleh kadar polifenol untuk ekstrak etanol 50% adalah 1,114% atau setara dengan 11,14 mgGAE/gram ekstrak. Untuk ekstrak etanol 70% diperoleh 1,62% atau setara dengan 16,20 mgGAE/gram ekstrak, sedangkan untuk ekstrak etanol 96% diperoleh kandungan polifenol 1,172% atau setara dengan 11,72 mgGAE/gram ekstrak. Kadar senyawa polifenol ditunjukkan dalam GAE(gallat acid ekuivalen) karena belum diketahui struktur kimia senyawa polifenol yang terdapat dalam daun biduri(*Calotropis gigantean L.*)

Berdasarkan analisis statistik, didapatkan hasil kadar polifenol

Pengaruh variasi konsentrasi cairan penyari etanol terhadap kadar polifenol pada daun biduri (Calotropis gigantea L.)

ekstrak etanol daun Biduri (*Calotropis gigantea* L.) dengan ketiga variasi konsentrasi yaitu 50%, 70%, dan 96% berbeda nyata.

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian ini, maka dapat disimpulkan bahwa variasi konsentrasi cairan etanol dapat mempengaruhi kadar total polifenol. Kadar polifenol yang maksimal pada ekstrak daun Biduri (*Calotropis gigantea* L.) adalah ekstrak etanol dengan konsentrasi 70% yaitu 1,62% atau setara dengan 16,20 mgGAE/gram ekstrak. Berdasarkan analisis statistik, didapatkan hasil kadar polifenol ekstrak etanol daun Biduri (*Calotropis gigantea* L.) dengan ketiga variasi konsentrasi yaitu 50%, 70%, dan 96% berbeda nyata.

DAFTAR PUSTAKA

1. Pujiade WA. Etnofarmasi Tumbuhan Obat Asal Kabupaten Soppeng Provinsi Sulawesi Selatan (Skripsi). Makassar : Universitas Muslim Indonesia, 2011.
2. Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan. Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat. Jakarta : Departemen Kesehatan RI, 2000.
3. Nio OK. Zat-Zat Toksik yang Secara Alamiah Ada pada Bahan Makanan Nabati. Cermin Dunia Kedokteran 1989; 58(24).
4. Mazdink. Polifenol dan Tannin Pada Minuman Bir, Anggur, dan Coklat. (<http://polifenol/PenerjemahonlineIngggris-Indonesia.htm>) diakses 5 Maret 2014). Jakarta; 2008.
5. Harbone JB. Metode fitokimia : Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan. Terbitan Kedua. Terjemahan Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro. Bandung : Institut Teknologi Bandung, 1987.
6. Ganiswara. Farmakologi dan Terapi. Jakarta : Badan Farmakologi Fakultas Kedokteran UI, 1995.
7. Andayani R, dkk. Penentuan Aktivitas Antioksidan, Kadar Fenolat Total dan Likopen Pada Buah Tomat. Jurnal Sains dan Teknologi, 2008.
8. Fauziah L. Studi dimerisasi asam ferulat dan esternya melalui reaksi oksidatif kopling dengan biokatalis peroksidase (skripsi). Depok : F MIPA UI, 2008.
9. Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan. Sediaan Galenik. Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1986.
10. Mariska PV. Pengujian Kandungan Fenol Total Tomat (*Lycopersicum esculentum*) secara *in vitro* (Skripsi). Jakarta : Fakultas Kedokteran UI, 2009.
11. Rahmawati A. Kandungan Fenol Total Ekstrak Buah Mengkudu (Skripsi). Jakarta : Fakultas Kedokteran UI, 2009.

Pengaruh variasi konsentrasi cairan penyari etanol terhadap kadar polifenol pada daun biduri (Calotropis gigantea L.)

12. Aspari PD, Susanti H. Perbandingan Kadar Fenolik Total Ekstrak Metanol Kelopak Merah dan Ungu Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* Linn) Secara Spektrofotometri, 2011.

13. Ismail J, Runtuwene M, Fatimah F. Penentuan Total Fenolik Dan Uji Aktivitas Antioksidan Pada Biji dan Kulit Buah Pinang Yaki (*Areca vestiaria* Giseke). 2012.