

**PENENTUAN KADAR FENOLIK TOTAL DAN
STANDARDISASI EKSTRAK KULIT KAYU SECANG
(CAESALPINIA SAPPAN L)**

**DETERMINATION OF TOTAL PHENOLIC CONTENT AND
STANDARDIZATION OF SECANG (CAESALPINIA SAPPAN L.)
WOOD EXTRACT**

Oleh :

Zainab Muthiah¹, Cornelia Budimarwanti¹, dan Idah Rosidah.²

¹Jurusan Pendidikan Kimia FMIPA Universitas Negri Yogyakarta

² Laboratorium Teknologi Farmasi dan Medika - BPPT Serpong.

Email: cornelia_budimarwanti@uny.ac.id

Idah.rosidahmahdi@gmail.com

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kadar fenolik total dalam ekstrak kental dan ekstrak kering, kandungan senyawa metabolit sekunder ekstrak kulit kayu secang (*Caesalpinia Sappan L.*) berdasarkan uji fitokimia kualitatif, dan standardisasi ekstrak kental dan ekstrak kering kulit kayu secang. Proses pembuatan ekstrak dilakukan dengan metode maserasi-perkolasi menggunakan pelarut etanol 30%, 50%, dan 70%, dilanjutkan dengan penapisan fitokimia kualitatif terhadap alkaloid, flavanoid, tanin, steroid, dan saponin. Hasil ekstraksi dibuat ekstrak kental dan ekstrak kering kemudian ditentukan kadar fenolik totalnya menggunakan metode Folin-Cioulciateu dengan standar ekuivalen asam galat (EAG) dan standardisasi ekstrak terhadap parameter spesifik dan parameter non-spesifik. Hasil penapisan fitokimia menunjukkan ekstrak kulit kayu secang mengandung senyawa metabolit sekunder flavanoid, tanin/polifenol, steroid, dan saponin. Hasil penentuan kadar fenolik total dari ekstrak kulit kayu secang menggunakan pelarut etanol 30%, 50%, dan 70% berurut-turut adalah $396,29 \pm 10,85$ mg EAG/g Ekstrak, $409,46 \pm 14,16$ mg EAG/g Ekstrak, dan $608,23 \pm 28,13$ mg EAG/g Ekstrak. Kadar fenolik total pada ekstrak kering terbaik adalah ekstrak kering (laktosa) sebesar $513,70 \pm 44,52$ mg EAG/g Ekstrak. Ekstrak kental dan ekstrak kering kulit kayu tanaman secang yang dibuat memenuhi standar yang telah ditentukan dalam FHI (Farmakope Herbal Indonesia).

Kata kunci: secang (*Caesalpinia Sappan L.*), ekstraksi, kadar fenolik total, standardisasi, penapisan fitokimia

ABSTRACT

The aim of this research were to determine total phenolic content in secang (*Caesalpinia sappan L*) wood extract, to know it's secondary metabolites content based on qualitative phytochemical screening, and it's standardization of the thick and dried extract. The production process of secang wood extract was carried out by maceration-percolation extraction method using ethanol 30%,50%,and 70% solvent, and then the qualitative phytochemical screening. The determination total phenolic content of thick and dried extract using Folin-Cioulciateu Assay method with gallic acid equivalent (EAG) standard and extracts standardization against specific and non-specific parameters. Based on screening phytochemical, secang wood extract contains flavonoids, tannin/polyphenol, steroids, and saponins. The total phenolic content of the extracts respectively from ethanol 30%, 50%, and 70% solvent was 396.29 ± 10.85 mg GAE/g Extract, 409.46 ± 14.16 mg GAE/g Extract, dan 608.23 ± 28.13 mg GAE/g Extract. Total phenolic content of the best dried extract (lactose) was 513.70 ± 44.52 mg GAE/g Extract. These Results were in accordance with FHI (Farmakope Herbal Indonesia) standard.

Keywords: secang (*Caesalpinia Sappan L*), extraction, total phenolic content, standardization, screening phytochemical

PENDAHULUAN

Kulit kayu secang (*Caesalpinia sappan L.*) secara empiris dimanfaatkan sebagai bahan untuk pengobatan penyakit asam urat [1]. Berbagai macam zat yang terkandung dalam kulit kayu secang antara lain brazilin, alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, fenilpropana dan terpenoid. Selain itu juga mengandung asam galat, delta-aphellandrene, oscimene, resin dan resorin [2].

Penelitian mengenai efek secang sebagai agen antihiperurisemia, anti bakteri, obat kanker dan masih banyak lagi telah banyak dikembangkan, sedangkan penelitian mengenai standardisasi ekstrak terhadap berbagai konsentrasi pelarut belum banyak dilakukan, maka dirasakan perlu dilakukan penelitian lebih lanjut

terhadap pembuatan ekstrak herbal terstandar, sehingga diharapkan dapat memberikan informasi tentang ekstrak herbal secang terstandar.

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui kadar fenolik total dari ekstrak kental dan ekstrak kering ekstrak kayu secang dan menstandarisasi ekstrak kayu secang (*Caesalpinia Sappan L.*),

METODE PENELITIAN

Alat. Spektroskopi UV-Vis, Karl Fischer Titrator, Hot Plate and Stirrer, Sonication Bath, Timbangan Analitik, Grinder, Mousture Balance, MikroPipet, Vacum Rotavapor, Furnace, Kromatografi Gas, Kromatografi Lapis Tipis

Bahan. Serbuk kulit kayu Secang, Etanol 96%, Folin Ciocalteu, Na_2CO_3 , Asam Galat, HCl 37%,

Dextrin, Corn Starch, Laktosa, Maltodekstrin, Avicel PH 102, Amprotab.

Pembuatan Ekstrak. Serbuk kulit kayu secang disiapkan dan diekstrak berturut-turut menggunakan pelarut etanol 30%, 50%, dan 70% dengan metode ekstraksi maserasi-perkolasi selama 2 jam.

Skrining Fitokimia. Skrining fitokimia ekstrak cair dilakukan untuk mengetahui adanya senyawa metabolit sekunder alkaloid, saponin, tanin/polifenol, flavonoid, serta steroid.

Pembuatan Ekstrak Kental.

Ekstrak kental dibuat dengan cara menguapkan pelarut air dan etanol dalam ekstrak cair menggunakan alat evaporator.

Penentuan kadar fenolik total.

Penentuan kadar fenolik total ini dilakukan dengan metode Folin-Ciocalteu [3] yang telah dimodifikasi.

1. Menentukan λ maksimum dengan cara *men-scanning* absorbansi standar pada 300 nm – 850 nm, pada penelitian terdahulu diketahui λ maksimum pada 725 nm [4].
2. Membuat Kurva Standar Asam galat pada range 40 ppm hingga 160 ppm.
3. Menentukan kadar fenolik total dengan cara: Sebanyak 0,1 ml sampel 200ppm dimasukkan kedalam kuvet kemudian ditambahkan 0,75 ml folin ciocalteu 1:10 dan menunggu 5

menit sambil di kocok, setelah itu menambahkan 0,75 ml larutan Na_2CO_3 6% kedalam kuvet dan didiamkan selama 90 menit Mengukur absorbansi sampel pada λ maksimum dan menghitung kadar sampel berdasarkan kurva standar asam galat yang dibuat.

Standardisasi ekstrak kental. yang dilakukan pada aspek spesifik dan aspek non-spesifik seperti kadar air, susut pengeringan, kadar abu total, kadar abu tidak larut asam, kadar sari larut air, kadar sari larut etanol, serta kadar sisa etanol yang terdapat dalam ekstrak.

Pembuatan Ekstrak Kering.

Ekstrak kental dengan variasi konsentrasi yang memiliki kadar fenolik total tertinggi dibuat menjadi ekstrak kering dengan cara menambahkan *filler* (bahan pengisi) yang dilanjutkan dengan pengovenan menggunakan oven vakum selama 4 jam. Untuk melihat pengaruhnya terhadap ekstrak kering yang dihasilkan, ditambahkan beberapa jenis *filler* antara lain adalah Laktosa, Dekstrin, Maltodekstrin, *Corn Starch*, Amrotab, Maltodekstrin, dan Avicel PH 102.

Standardisasi Ekstrak Kering.

Melihat pengaruh penambahan filler terhadap ekstrak kering dengan cara mengukur kadar fenolik totalnya serta melakukan standardisasi ekstrak kering terhadap kadar air, sifat alir dan uji organoleptik

HASIL DAN DISKUSI

1. Skrining Fitokimia. Hasil skrining fitokimia kualitatif terhadap ekstrak cair kulit kayu secang dengan konsentrasi etanol 30%, 50%, dan 70%

2. Standardisasi Ekstrak Kental

Tabel 1. Standardisasi ekstrak kental

No	Aspek	Ekstrak Secang dengan Etanol 30 %	Ekstrak Secang dengan Etanol 50 %	Ekstrak Secang dengan Etanol 70 %	Standar FHI ^[5] /Quality Standard (%)
1	Susut Pengeringan	15,30% ± 2,84%	21,23% ± 7,89%	8,25%±2,64%	-
2	Kadar Abu Total	4,317% ± 0,071%	3,758% ± 0,102%	1,912% ± 0,076%	≤ 1,40
3	Kadar Abu Tidak Larut Asam	0,400% ± 0,288%	0,447% ± 0,090%	0,146% ± 0,041%	≤ 0,60
4	Kelengketan	>Secang 50% >Secang 70%	< Secang 30% > Secang 70%	< Secang 50% < Secang 70%	-
5	Sari Larut Air	0,476%±0,003 %	0,410%±0,003 %	0,532%±0,001 %	18,00
6	Sari Larut Etanol	0,924% ± 0,002%	1,092 ± 0,006%	1,223% ± 0,004%	9,70
7	Sisa Pelarut Etanol	0,006% ± 0,00071%	0,018% ±0,00045%	0,010% ± 0,00717%	Harus sangat kecil/tidak ada

Susut Pengeringan. Berdasarkan Tabel 1 diketahui bahwa susut pengeringan dari ekstrak-ekstrak yang telah dibuat berkisar antara 8,25% - 21,24%. Parameter susut pengeringan menunjukkan bahwa sisa bahan yang mudah menguap/atsiri dan sisa pelarut organik yang mudah menguap dalam ekstrak kulit kayu secang etanol

menunjukkan bahwa ekstrak yang telah dibuat mengandung metabolit sekunder tanin/polifenol, saponin, flavonoid dan steroid.

30%, 50%, dan 70% maksimal dalam rentan 8,25% - 21,24%.

Kadar Abu . kadar abu total dari ekstrak-ekstrak yang telah dibuat berkisar antara 1,91% - 4,318%. Sehingga dapat dikatakan ketiga ekstrak kulit kayu secang tidak memenuhi standar FHI (< 1,4%), hal ini kemungkinan disebabkan oleh lingkungan tumbuh secang yang

kaya akan mineral dan senyawa anorganik, sehingga ekstrak kulit kayu secang yang didapatkan memiliki kadar mineral dan senyawa anorganik yang cukup tinggi. Kadar abu sendiri merupakan implementasi dari kadar mineral dan senyawa anorganik dalam ekstrak yang tidak dapat terdestruksi saat dipanaskan, sehingga ditetapkan batas standar oleh FHI [5].

Kadar Abu Tak Larut Asam.

Kadar abu tak larut asam dari ekstrak-ekstrak yang telah dibuat berkisar antara 0,146% - 0,448%. Sehingga dapat dikatakan ekstrak kulit kayu secang tidak melebihi batas standar FHI (< 0,6%) [5]. Dimana kadar abu merupakan implementasi dari kadar mineral dan senyawa anorganik yang tidak larut dalam asam di dalam ekstrak yang tidak dapat terdestruksi saat dipanaskan.

Kelengketan. Hasil pengamatan terhadap uji kelengketan, diketahui urutan kelengketan ekstrak kental kulit kayu secang dari yang paling lengket adalah Ekstrak secang dengan etanol 30%, Ekstrak secang dengan etanol 50%, dan Ekstrak secang dengan etanol 70%. Kelengketan dalam ekstrak disebabkan oleh kandungan resinnya. Semakin banyak kandungan polar dalam pelarut yang digunakan, semakin banyak pula resin yang terekstrak, sehingga ekstrak yang dihasilkan semakin lengket.

Sari Larut Air. Kadar sari larut air dari ekstrak-ekstrak yang telah dibuat tidak lebih dari 0,533%.

Sari Larut Etanol. Kadar sari larut etanol dari ekstrak-ekstrak yang telah dibuat tidak lebih dari 1,224%.

Sisa Pelarut. Menurut standar FHI dikatakan bahwa kadar sisa pelarut etanol harus sesedikit mungkin. Dalam penelitian ini yang dihitung adalah kadar sisa pelarut etanol dalam ekstrak kental yang masih mengandung sedikit pelarut. Perhitungan sisa pelarut ini dilakukan sebagai pendahuluan untuk mengetahui kadar pelarut etanol yang terkandung sebelum ekstrak kental dibuat menjadi ekstrak kering. Sehingga dapat dipastikan saat dibuat ekstrak kering sudah tidak mengandung pelarut etanol sama sekali. [6]

Berdasarkan Tabel 1, diketahui dari ketujuh parameter standardisasi ekstrak kental yang telah dilakukan, terdapat satu aspek standar ekstrak yang melebihi batas standar FHI [5] yakni pada aspek kadar abu total.

3. Kandungan Fenolik Total Ekstrak Kental

Tabel 2. Kadar Fenolik total Ekstrak Kental

Ekstrak	Kadar Fenolik Total (µg EAG /mg Ekstrak)
----------------	---

Ekstrak Secang etanol 30%	(396,296 ±10,85
Ekstrak Secang etanol 50%	(409,465 ±14,16
Ekstrak Secang etanol 70%	(608,230 ±28,127

Ket. EAG: Ekvivalen Asam Galat

Berdasarkan Tabel 2 menunjukkan bahwa pelarut dengan etanol yang konsentrasinya lebih tinggi memiliki kadar fenolik total lebih banyak. Hal tersebut karena pengaruh kepolaran dari etanol yang digunakan. Etanol memiliki sifat semipolar karena adanya gugus OH yang bersifat polar

4. Standardisasi Ekstrak Kering

Tabel 3. Hasil Standardisasi Ekstrak kering kulit kayu secang

Formulasi Ekstrak Kering	Aspek		
	Organoleptik	Kadar Air	Sifat Alir
1. Ekstrak Kering (Laktosa)	Warna: merah bata, Bau : bau khas, Bentuk : butiran halus	5,77% ± 2,44%	19,433° ± 4,293°
2. Ekstrak Kering (Dekstrin)	Warna: merah bata tua, Bau : bau khas, Bentuk : butiran halus	5,35% ± 0,49%	14,483° ± 3,501°
3. Ekstrak Kering (Corn Starch)	Warna: merah bata, Bau : bau khas, Bentuk : butiran halus	6,13% ± 2,65%	15,500° ± 3,072°
4. Ekstrak Kering (Amrotab)	Warna: merah bata, Bau : bau khas, Bentuk : butiran halus	4,77% ± 0,71%	12,430° ± 5,251°
5. Ekstrak Kering (Maltodeksrin)	Warna: merah bata, Bau : bau khas, Bentuk : butiran halus	4,80% ± 2,23%	18,080° ± 3,222°
6. Ekstrak Kering (Avicel PH 102)	Warna: merah bata, Bau : bau khas, Bentuk : butiran agak kasar	8,18% ± 2,11%	23,157° ± 4,534°
Batas Standar		< 10%	< 25°

Organoleptik. Berdasarkan pengamatan organoleptik yang dilakukan terhadap formulasi enam *filler* yang dibuat, menghasilkan serbuk ekstrak kering yang baik

dan struktur etil yang bersifat non-polar, sedangkan air merupakan senyawa polar. Tingkat kepolaran etanol yang digunakan dipengaruhi oleh banyaknya kadar air dalam larutan tersebut, semakin banyak kadar air dalam larutan (etanol : air), maka semakin tinggi tingkat kepolaran. Dimana senyawa fenolik yang ditarik bersifat semi polar yakni gugus benzen bersifat non-polar dan gugus OH bersifat polar. Itulah sebab mengapa ekstrak secang dengan pelarut etanol 70% dapat menarik gugus fenolik paling banyak.

dengan warna serbuk serbuk ekstrak kering antara merah bata hingga merah bata gelap, dan memiliki bau yang khas dan tidak berubah baunya dari ekstrak

kentalnya, serta menghasilkan serbuk yang halus dengan tingkat yang berbeda-beda.

Kadar Air. Penentuan kadar air ekstrak kering kayu secang dilakukan dengan alat *moisture balance*. Hasil analisis dapat dilihat dalam Tabel 3, dari keenam formula ekstrak kering menunjukkan bahwa kadar air yang menggunakan *filler* Avicel PH 102 lebih besar dibandingkan dengan formula ekstrak kering yang menggunakan *filler* lainnya. Hal ini terjadi kemungkinan karena sifat *filler* yang digunakan digunakan memiliki sifat lebih higroskopis dibandingkan dengan *filler* yang lain. Kemungkinan lain adalah oleh kondisi suhu pada saat pengeringan, karena kadar air menurun dengan meningkatnya

suhu pengeringan [7]. Berdasarkan enam formulasi yang dibuat hanya ekstrak kering yang menggunakan *filler* amrotab dan maltodekstrin yang memiliki kadar air dibawah 5%, untuk menurunkan kadar air dari formulasi yang telah dibuat perlu adanya perpanjangan waktu pemanasan menggunakan oven vakum.

Sifat Alir. Sifat alir diketahui korelasi-nya dengan sudut diam suatu serbuk. Berdasarkan Tabel 3 diketahui keenam hasil ekstrak kering memiliki sudut diam $<25^\circ$ hal ini dapat dinyatakan bahwa keenam ekstrak kering yang dibuat mudah mengalir. Diketahui pula ekstrak yang paling mudah mengalir adalah dengan penambahan *filler* amrotab.

5. Kandungan Fenolik Total Ekstrak Kering

Tabel 4. Kandungan Fenolik Total Ekstrak Kering 70%

Ekstrak + <i>Filler</i>	Kadar Fenolik Total
Ekstrak Kering (Laktosa)	(513,70 ± 44,52) mg EAG /g Ekstrak
Ekstrak Kering (Dextrin)	(228,52 ± 13,39) mg EAG /g Ekstrak
Ekstrak Kering (Corn Starch)	(304,81 ± 31,24) mg EAG /g Ekstrak
Ekstrak Kering (Amrotab)	(302,59 ± 9,96) mg EAG /g Ekstrak
Ekstrak Kering (Maltodextrin)	(310,00 ± 68,59) mg EAG /g Ekstrak
Ekstrak Kering (Avicel PH 102)	(500,37 ± 22,48) mg EAG /g Ekstrak

Berdasarkan Tabel 4. Dapat dilihat ekstrak kering dengan penambahan *filler* Laktosa memiliki kadar fenolik total tertinggi, hal ini disebabkan kebutuhan *filler* dalam setiap ekstrak berbeda, dimana rasio kebutuhan *filler* berbanding terbalik dengan kandungan

fenolik totalnya, sehingga semakin banyak kebutuhan *filler* yang digunakan dalam ekstrak, maka akan semakin sedikit kandungan fenolik totalnya.

SIMPULAN

1. Kadar fenolik total dari ekstrak kayu secang dari etanol 30% sekitar

- 396.296 ± 10,85 mg EAG/g Ekstrak, ekstrak dari etanol 50% sekitar 409.465 ± 14,16 mg EAG/g Ekstrak, dan ekstrak dari etanol 70% tentang 608,23 ± 28.127 mg EAG/g Ekstrak. Dengan kadar fenolik total terbaik pada ekstrak kering dengan penambahan *filler* laktosa yakni sebesar (513,70 ± 44,52) mg EAG /g Ekstrak.
2. Kandungan metabolit sekunder yang terdapat dalam ekstrak kayu secang (*Caesalpinia Sappan L.*) adalah saponin, tanin/polifenol, steroid, flavanoid yang diketahui dari uji fitokimia kualitatif.
 3. Ekstrak secang yang dibuat memenuhi standar yang ditetapkan oleh FHI yakni susut pengeringan tidak lebih dari 26%, Kadar abu total tidak lebih dari 4,4%, kadar abu tak larut asam tidak lebih dari 0,45%, kadar sari larut air antara 0,41% sampai 0,532%, kadar sari larut etanol 0,924% sampai 1,223%, kadar sisa pelarut etanol sangat kecil tidak lebih dari 0,019% .

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada ibu Idah Rosidah, M.Farm. Apt dan Ibu Dra. C. Budimarwati, M.Si. yang telah mendampingi penulis dalam penelitian yang berjudul “ Penentuan Kadar Fenolik Total dan Standardisasi Ekstrak Tanaman Kayu Secang (*Caesalpinia Sappan L.*)

DAFTAR PUSTAKA

1. Pertamawati dan Mutia Hardhiyuna. 2015. Uji Penghambatan Aktivitas

Enzim Xantin Oksidase Terhadap Ekstrak Kulit Kayu Secang (*Caesalpinia Sappan L.*). *Kartika-Jurnal Ilmiah Farmasi*, Des 2015, 3(2), 12-17. Pusat Teknologi Farmasi dan Medika-LAPTIAB-BPPT

2. Xu, H., Zhou, Z., dan Yang, J. 1994. Chemical Constituents of *Caesalpinia sappan L.* *Zhongguo Zhongyao Zazhi*, 19, (8) 485-492
3. Singleton, Vernon L., Orthofer, R. dan Lamuela-Raventós, Rosa M. 1999. [14] Analysis Of Total Phenols And Other Oxidation Substrates And Antioxidants By Means Of Folin-Ciocalteu Reagent. *Polyphenols And Flavonoids*. Hlm. 152- 178.
4. Jannat, B., Oveisi, M. R., Sadegh N., Hajimahmoodi, M., Behzad, M., Choopankari, E. Dan Behfar, A. A. 2010. Effects Of Roasting Temperature And Time On Healthy Nutraceuticals Of Antioxidants And Total Phenolic Content In Iranian Sesame Seeds (*Sesamum Indicum L.*) *Iran. J. Environ. Health. Sci. Eng.*, 2010, Vol. 7, No. 1, pp. 97-102
5. Depkes RI. 2008. *Farmakope Herbal Indonesia Edisi I*. Jakarta: Direktorat Jendral Bina Farmasi dan Alat Kesehatan
6. Depkes RI. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Direktorat Pengawasan Obat dan Makanan. Hlm 12- 32
7. Rathanand., dkk. 2007. Preparation of Mucoadhesive Microspheres for Nasal Delivery by Spray Drying. *Indian J Pharm Sci*(69), Hlm. 651-657

