

**PENENTUAN KADAR TOTAL FENOL DAN UJI AKTIVITAS
ANTIOKSIDAN KOMBINASI EKSTRAK SARANG SEMUT (*Myrmecodia
pendens* Merr. & L.M. Perry) DAN EKSTRAK KENCUR (*Kaempferia
galanga* Linn.) DENGAN METODE β -CAROTENE BLEACHING**

**TOTAL PHENOL COMPOUND AND ANTIOXIDANT ACTIVITY ASSAY
OF EXTRACT COMBINATIONS OF SARANG SEMUT (*Myrmecodia
pendens* Merr. & L.M. Perry) AND KENCUR (*Kaempferia galanga* Linn.)
BY METHOD β -CAROTENE BLEACHING**

Isnaini Amanah dan Nurfina Aznam

Jurusan Pendidikan Kimia FMIPA Universitas Negeri Yogyakarta

e-mail: nurfinaaznm@gmail.com

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kadar total fenol yang terdapat pada ekstrak sarang semut (*Myrmecodia pendens* Merr. & L.M. Perry) dan ekstrak kencur (*Kaempferia galanga* Linn.), aktivitas antioksidan dari kombinasi ekstrak sarang semut dan kencur, kombinasi ekstrak sarang semut dan ekstrak kencur yang paling potensial digunakan sebagai antioksidan, perbedaan yang signifikan pada aktivitas antioksidan dari kombinasi ekstrak sarang semut dan ekstrak kencur dengan perbandingan 3:0; 2:1; 1:1; 1:2; dan 0:3 pada berbagai variasi konsentrasi, serta adanya sinergisitas dari kombinasi ekstrak.

Kadar total fenol ditentukan dengan metode Foliin-Ciocalteu. Kombinasi ekstrak sarang semut dan ekstrak kencur dibuat dengan perbandingan 3:0; 2:1; 1:1; 1:2; dan 0:3 pada berbagai variasi konsentrasi yaitu 7,2; 3,6; 1,8; 0,9; dan 0,45 mg/L. Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode β -Carotene Bleaching. Parameter aktivitas antioksidan yaitu IC₅₀ (*Inhibition Concentration*).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar total fenol pada sarang semut dan kencur masing-masing adalah 5,675 mg GAE/g dan 5,882 mg GAE/g. Nilai IC₅₀ dari kombinasi ekstrak sarang semut dan ekstrak kencur dengan perbandingan 3:0; 2:1; 1:1; 1:2; dan 0:3 masing-masing sebesar 5,7368; 7,4435; 12,2688; 12,1569; dan 14,9127 mg/L. Aktivitas antioksidan paling tinggi ditunjukkan pada kombinasi 2:1. Hasil analisis statistik ANOVA menunjukkan ada perbedaan yang signifikan aktivitas antioksidan kombinasi ekstrak sarang semut dengan

ekstrak kencur. Kombinasi ekstrak sarang semut dengan ekstrak kencur tidak menunjukkan aksi sinergistis.

Kata Kunci: Kadar total fenol, Aktivitas antioksidan, ekstrak *Myrmecodia pendens* Merr. & L.M. Perry, ekstrak *Kaempferia galanga* Linn.

Abstract

This research aimed to determine the total phenolic compound of extract *sarang semut* (*Myrmecodia pendens* Merr. & L.M. Perry) and extract *kencur* (*Kaempferia galanga* Linn.), antioxidant activity of extract combinations of *sarang semut* and *kencur*, a significant difference in the antioxidant activity of extract combinations of *sarang semut* and *kencur* with a ratio of 3:0; 2:1; 1:1; 1:2; and 0:3 at various concentrations, extract combinations of *sarang semut* and *kencur* that most potential used as an antioxidant, and for existences of any synergistic action of extract combinations.

Total phenol compound tested by Follin-Ciocalteu method. The combinations extract of *sarang semut* and *kencur* made with a ratio of 3:0; 2:1; 1:1; 1:2; and 0:3 at various concentrations 7,2; 3,6; 1,8; 0,9; and 0,45 mg/L. Antioxidant assay tested by β -Carotene Bleaching method. Antioxidant activity parameter is IC_{50} (Concentration Inhibititon).

The results of this research shows that the values of total phenol compound for extract *sarang semut* and *kencur* are 5,675mg GAE/g and 5,882 mg GAE/g. The IC_{50} values for extract combinations of *sarang semut* and *kencur* with a ratio of 3:0; 2:1; 1:1; 1:2; and 0:3 at various concentrations 5,7368; 7,4435; 12,2688; 12,1569; and 14,9127 mg/L, respectively. From various combinations that show the highest antioxidant activity is combination with ratio 2:1. The results of ANOVA statistical analysis shows a significant difference in the antioxidant activity of *sarang semut* extract combined with *kencur*. The combinations of *sarang semut* extract with *kencur* shows no synergistic action.

Keywords: Total phenol compound, Antioxidant activity, *Myrmecodia pendens* Merr. & L.M. Perry extract, *Kaempferia galanga* Linn. extract.

PENDAHULUAN

Antioksidan merupakan atom atau molekul pemberi elektron yang dapat meredam dampak negatif radikal bebas [1]. Antioksidan yang diketahui merupakan zat yang dapat menetralkan radikal bebas atau bahan yang dapat mencegah sistem biologi tubuh dari efek yang merugikan yang timbul dari proses ataupun reaksi yang menyebabkan oksidasi yang berlebihan [2]. Senyawa-senyawa kimia yang berperan sebagai antioksidan adalah termasuk senyawa golongan fenol maupun polifenol.

Sarang semut (*Myrmecodia pendens* Merr. & L.M.Perry) [3] dan kencur (*Kaempferia galanga* Linn.) [4] merupakan beberapa tanaman yang mempunyai kandungan senyawa aktif yang memiliki potensi sebagai antioksidan. Pada penelitian ini dilakukan pengujian kadar total fenol dengan metode Follin-Ciocalteu. Pengujian aktivitas antioksidan kombinasi ekstrak sarang semut dan ekstrak kencur dilakukan dengan metode β -Carotene Bleaching secara spektrofotometri.

BAHAN DAN METODE

Sarang semut (*Myrmecodia pendens* Merr. & L.M.Perry) dan kencur (*Kaempferia galanga* Linn.) yang digunakan diperoleh dari Pasar Beringharjo, Yogyakarta dan dilakukan identifikasi di Fakultas Biologi, Universitas Gadjah Mada. Bahan sampel (sarang semut dan kencur) dilakukan proses sortasi, pencucian (kecuali sarang semut), pengeringan, penggilingan dan pengayakan sehingga didapatkan serbuk kering [5].

Bahan Kimia

Etanol 96%, Etanol *absolute* (Merck), Reagen Follin-Ciocalteu, Na_2CO_3 7%, asam linoleat, β -karoten.

Ekstraksi

Serbuk sampel diekstraksi secara maserasi dengan pelarut etanol 96%. Maserasi dilakukan pada suhu ruangan selama 24 jam dilakukan sebanyak tiga kali pengulangan. Filtrat yang diperoleh kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator* dan dikeringkan di atas *waterbath* [5].

Penentuan Kadar Total Fenol [6]

Kurva standar asam galat dibuat dengan variasi konsentrasi 0,4; 0,8; 1,2; 1,6; 2,0; dan 2,4 mg/L dan diukur absorbansinya pada 765 nm. Prosedur pengukuran sampel dilakukan dengan cara memasukkan 0,4 mL sampel dan 0,4 mL reagen Folin-Ciocalteu ke dalam labu takar 10 mL. Campuran kemudian dikocok selama lima menit. Setelah itu tambahkan 4 mL Na_2CO_3 7 %, tepatkan dengan akuades sampai volume 10 mL. Larutan diinkubasi selama 40 menit pada suhu 23°C dan dibaca absorbansinya pada $\lambda=765$ nm menggunakan spektrofotometer *Spectronic 20 Genesys*.

Uji Aktivitas antioksidan [6,7]

Dilarutkan 1 mg β -karoten ke dalam 1 mL kloroform sehingga didapatkan konsentrasi 1mg/mL. Kloroform kemudian diuapkan selama \pm 30 menit. Ditambahkan 0,01 mL asam linoleat, kemudian residu dilarutkan dalam 30 mL etanol:akuades (4:1). Larutan dibuat baru setiap kali pengukuran. Ditimbang sejumlah ekstrak sarang semut kemudian dibuat larutan stok dengan variasi konsentrasi 120, 60,

30, 15, dan 7,5 mg/L. Hal yang sama dilakukan pada ekstrak kencur dan kombinasi kedua ekstrak. Kemudian dari masing-masing dibuat dengan berbagai perbandingan yaitu sebesar 3:0; 2:1; 1:1; 1:2; dan 0:3, digunakan sebagai larutan sampel yang akan diuji aktivitas antioksidan secara kuantitatif. Larutan β -karoten-linoleat 4,7 mL ditambahkan 0,3mL etanol, digunakan sebagai larutan kontrol dan 4,7 mL asam linoleat tanpa β -karoten ditambahkan 0,3 mL etanol sebagai larutan blangko.

Penentuan aktivitas antioksidan dilakukan dengan cara 4,7 mL larutan β -karoten-linoleat ditambahkan dengan 0,3mL larutan sampel (ekstrak etanol sarang semut, ekstrak kencur, atau kombinasi kedua ekstrak) dalam tabung reaksi dan diinkubasi selama 2 jam pada suhu 50°C . Pengukuran absorbansi dilakukan pada 451 nm menggunakan spektrofotometer *Spectronic 20 Genesys*.

Analisis Data

Perhitungan kadar total fenol menggunakan rumus berikut :

$$\text{Kadar Total Fenol} = \frac{C \times V \times fp \times fk}{\text{gram ekstrak}}$$

Keterangan :

- C = konsentrasi ekivalen dari grafik (nilai x)
 V = volume yang diukur pada spektrometri
 Fp = faktor pengenceran
 Fk = faktorkonversi

Data pengukuran absorbansi uji aktivitas antioksidan diubah ke dalam persen (%) inhibisi dengan menggunakan rumus sebagai berikut :

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{As_0 - As_{120}}{Ac_0 - Ac_{120}} \times 100\%$$

Keterangan :

- As₀ = absorbansi sampel sebelum inkubasi
 As₁₂₀ = absorbansi sampel setelah 2 jam inkubasi
 Ac₀ = absorbansi control sebelum inkubasi
 Ac₁₂₀ = absorbansi control setelah 2 jam inkubasi

Dari data hasil dihitung nilai rata-rata (mean) dan standar deviasi (SD). Perhitungan statistik dengan *one-way analysis of variance* (ANOVA), untuk membandingkan perbedaan yang signifikan pada aktivitas antioksidan dari kombinasi

ekstrak sarang semut dan ekstrak kencur dengan perbandingan 3:0; 2:1; 1:1; 1:2; dan 0:3 pada berbagai variasi konsentrasi.

HASIL DAN DISKUSI

Penentuan Kadar Total Fenol

Uji kandungan total fenol bertujuan untuk mengetahui jumlah fenol yang terdapat pada sampel. Uji kandungan total fenol dilakukan dengan metode Follin-Ciocalteu. Kadar total fenol ditetapkan dengan metode spektrofotometri sinar tampak. Metode ini didasarkan pada pembentukan senyawa kompleks yang berwarna biru dari fosfomolibdat-fosfotungstat yang direduksi senyawa fenolik dalam suasana basa.

Kadar total fenol pada masing-masing ekstrak dinyatakan sebagai ekuivalen asam galat atau *Gallic Acid Equivalent* (GAE)[8]. Kadar total fenol yang terdapat pada sarang semut adalah 5,675 mgGAE/g dan 5,882 mg GAE/g untuk ekstrak kencur.

Uji Aktivitas Antioksidan

Pengujian aktivitas antioksidan dari kombinasi ekstrak sarang semut dengan ekstrak kencur, dilakukan menggunakan metode *β -Carotene Bleaching*. Prinsip dari metode ini adalah adanya radikal bebas yang berasal dari proses oksidasi asam linoleat yang bertindak sebagai radikal bebas yang menyerang molekul target yaitu β -karoten sehingga mengalami proses degradasi yang ditandai dengan proses pemucatan warna dari β -karoten. Penambahan sampel yang mempunyai aktivitas antioksidan akan menetralkan radikal bebas asam linoleat sehingga mencegah degradasi β -karoten (pemucatan warna). Dengan demikian dapat diketahui nilai persen (%) inhibisi

dari senyawa terhadap radikal asam linoleat, yang dinyatakan dengan nilai IC_{50} (*Inhibition Concentration*). Nilai IC_{50} merupakan nilai yang menunjukkan besarnya konsentrasi sampel yang dapat menghambat degradasi β -karoten sebesar 50%. Hasil yang diperoleh berdasarkan persamaan regresi linier, untuk menentukan nilai estimasi IC_{50} .

Nilai IC_{50} kombinasi ekstrak sarang semut dan ekstrak kencur dapat dilihat pada Tabel 1. Nilai IC_{50} berbanding terbalik dengan aktivitas antioksidan dari suatu sampel. Semakin rendah nilai IC_{50} suatu sampel, maka sampel tersebut menunjukkan aktivitas antioksidan yang semakin tinggi.

Tabel 1. Data IC_{50} Kombinasi Ekstrak Sarang Semut dan Ekstrak Kencur

Kombinasi (S : K)*	Persamaan, $y = ax + b$	R^2	IC_{50} (mg/L)
3 : 0	$y = 5,5109x + 18,389$	0,8614	5,7361
2 : 1	$y = 4,5974x + 15,758$	0,9114	7,4481
1 : 1	$y = 3,3064x + 9,3893$	0,9697	12,2824
1 : 2	$y = 3,4414x + 8,1764$	0,8283	12,1531
0 : 3	$y = 2,9758x + 5,5582$	0,9213	14,9344

*S = sarang semut; K = kencur; a = *slope*; b = *intercept*; R^2 = koefisien determinasi

Berdasarkan Tabel 1, aktivitas antioksidan ekstrak sarang semut murni lebih tinggi dibandingkan dengan kombinasi ekstrak sarang semut dan ekstrak kencur. Efek kombinasi yang ditunjukkan yaitu, ekstrak kencur menurunkan aktivitas antioksidan dari ekstrak sarang semut, dimana nilai IC_{50} dari perbandingan kombinasi lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak sarang semut murni.

Berdasarkan pengujian analisis statistik (*ANOVA*) dengan uji Tukey sebagai uji lanjut yaitu untuk membandingkan nilai rata-rata (mean), hasil menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan pada sampel kombinasi ekstrak sarang semut dan ekstrak kencur dengan perbandingan 3:0; 2:1; 1:1; 1:2; dan 0:3 pada berbagai variasi konsentrasi, dengan nilai $p < 0,05$, kecuali pada kombinasi 1:2 dengan konsentrasi 7,2 dan 3,6 mg/L tidak memiliki perbedaan yang signifikan.

SIMPULAN

Dari penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa :

1. Persen (%) kadar total fenol yang terdapat pada ekstrak sarang semut dan ekstrak kencur masing-masing adalah 5,675 mg GAE/g dan 5,882 mg GAE/g.
2. Aktivitas antioksidan yang ditunjukkan dengan nilai IC_{50} dari kombinasi ekstrak sarang semut dan ekstrak kencur dengan perbandingan 3:0; 2:1; 1:1; 1:2; dan 0:3 masing-masing sebesar 5,7361; 7,4481; 12,2824; 12,1531; dan 14,9344 mg/L .
3. Aktivitas antioksidan dari kombinasi ekstrak sarang semut dan ekstrak kencur terdapat perbedaan yang signifikan, kecuali pada kombinasi 1:2 dengan konsentrasi 3,456 dan 1,728 mg/L.
4. Dari beberapa kombinasi ekstrak sarang semut dengan ekstrak kencur yang menunjukkan aktivitas antioksidan paling tinggi yaitu kombinasi 2:1.
5. Kombinasi ekstrak sarang semut dengan ekstrak kencur tidak menunjukkan aksi sinergistis.

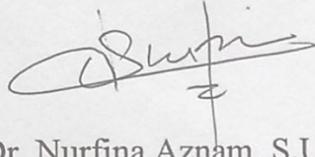
UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Prof. Dr. Nurfina Aznam, S.U., Apt. dan Prof. Dr. Sri Atun yang telah memberikan arahan dan bimbingan selama proses penelitian dan penulisan skripsi.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Sidik. (1997). Antioksidan Alami Asal Tumbuhan. Seminar Nasional Tumbuhan Obat Indonesia XII 26 s/d 27 Juni 1997.
- [2] Hariyatmi. (2004). Kemampuan Vitamin E sebagai antioksidan terhadap Radikal Bebas pada Lanjut Usia. *Jurnal MIPA UNS*. 14(I).
- [3] Ermelinda Noya, Yohanes Buang, Theo Da Cunha. (2013). Isolasi, Identifikasi dan Uji Aktivitas Senyawa Anti-oksidan Fraksi Kloroform Ekstrak Metanol sarang Semut. *Jurnal Kimia Teraran*. 1(I): 6-11.
- [4] Muhammad Wien Winarno, Dian Sundari, dan Yun Astuti. (2011). Tanaman Kencur (*Kaempferia Galanga* L.): Informasi tentang Fitokimia dan Efek Farmakologi. *Jurnal Warta Tumbuhan Indonesia*. 2011: 34-36.
- [5] Syahril Dimas Sabirin. (2014). Uji Aktivitas Antioksidan Kombinasi Ekstrak Sarang Semut (*Myrmecodia pendens* Merr. & L.M. Perry) dan Ekstrak Kencur (*Kaempferia galangal* Linn) dengan Metode DDPH. *Skripsi*. Yogyakarta : Universitas Negeri Yogyakarta.
- [6] Hammerschmidt P.A. and D.E. Pratt. (1978). Phenolic Antioxidant of Dried Soybean. *Journal Food Science*. 43: 556-559.
- [7] K.W. Lee, Y.J. Kim, H.J. Lee, and C.Y. Lee. (2003). Cocoa Has more Phenolik Phytochemical and A higher Antioxidant Capacity than Teas and Red Wine, *Journal Agricultural Food Chemistry*. 51 : 725-729.
- [8] Nur A.M. dan Astawan, M. (2011). Kapasitas Antioksidan Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia*) Dalam Bentuk Segar, Simplisia dan Keripik, Pada Pelarut Nonpolar, Semipolar dan Polar. *Skripsi*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.

Artikel ini telah disetujui untuk diterbitkan oleh Pembimbing I pada tanggal 24 Agustus 2015



Prof. Dr. Nurfina Aznam, S.U., Apt.

NIP. 19561206 198103 2 002

Artikel ini telah direview oleh Penguji Utama pada tanggal 03 Agustus 2015



Prof. Dr. Sri Atun

NIP. 19651012 199001 2 001