PENENTUAN KANDUNGAN TOTAL FENOLIK, FLAVONOID, DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DARI KUSO MAFOLA (*Drynaria quercifolia* L.)

Theresia Engka[1)], Max R.J. Runtuwene[2)], Jemmy Abidjulu[2)]
[1)]Program Studi Farmasi FMIPA UNSRAT Manado, 95115
[2)]Jurusan Kimia FMIPA UNSRAT Manado, 95115

ABSTRACT

The aims of this research were to study the antioxidant activity of methanol extracts from the rhizome of kuso mafola (Drynaria quercifolia L.) and to determine the total phenolic and flavonoid content. The study began with a maceration process using methanol to obtain a concentrated extract. Extraxt was tested against antioxidant activity with DPPH assay, and then determined the total phenolic and flavonoid contents. The results showed that the methanol extract of kuso mafola rhizome has antioxidant acivity with IC_{50} value of 128, 822 µg/mL, total phenolic content 97, 143 mg/kg, and total flavonoid content 4,45 mg/kg.

Keywords*: kuso mafola, methanol extract, antioksidan*

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari aktivitas antioksidan dari ekstrak metanol umbi kusomafola (*Drynaria quercifolia* L.*)* serta menentukan kandungan total fenolik dan flavonoidnya. Penelitian dimulai dengan proses maserasi menggunakan pelarut metanol hingga diperoleh ekstrak pekat. Ekstrak pekat kemudian diuji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH dan ditentukan kandungan total fenolik dan flavonoidnya. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak metanol umbi kuso mafola memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} sebesar 128,822 µg/mL, kandungan total fenolik sebesar 97, 143 mg/kg, dan kandungan total flavonoid sebesar 4,45 mg/kg.

Kata Kunci: Kuso mafola, ekstrak metanol, antioksidan

PENDAHULUAN

Senyawa antioksidan dapat ditemukan melimpah antara lain dalam tumbuh-tumbuhan. Senyawa antioksidan alami tumbuhan umumnya adalah senyawa fenolik atau polifenolik. Dalam beberapa tahun terakhir, identifikasi dan pengembangan senyawa fenolik atau ekstrak dari berbagai tumbuhan telah menjadi cakupan utama dalam penelitian yang terkait dengan kesehatan dan pengobatan. Bahkan, senyawa polifenol telah menarik perhatian berkaitan dengan potensi antioksidan serta kemampuannya dalam pencegahan berbagai penyakit yang disebabkan oleh stress oksidativ, seperti kanker (Windono *et al.,* 2001; Dai dan Mumper, 2010).

Banyak tumbuhan yang telah dimanfaatkan untuk pengobatan alternatif penyakit kanker. Salah satunya adalah kuso mafola (*Drynaria quercifolia*). Masyarakat di Pulau Tidore Provinsi Maluku Utara telah memanfaatkan bagian umbi dari tumbuhan ini untuk mengobati kanker payudara. Hal inilah yang mendorong dilakukannya penelitian mengenai aktivitas antioksidan pada tumbuhan ini. Sebelumnya, Abdullah *et al.* (2014) telah melakukan penapisan fitokimia dan uji aktivitas antioksidan pada umbi kuso mafola. Dari hasil yang diperoleh dapat diketahui ekstrak etanol umbi kuso mafola memiliki aktivitas antioksidan yang cukup baik dengan nilai IC_{50} sebesar 37,3 µg/mL.

Berdasarkan uraian di atas, perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk mempelajari aktivitas antioksidan serta kandungan total fenolik dan flavonoid dari ekstrak dan fraksi pelarut umbi kuso mafola.

METODOLOGI PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan yaitu pisau, oven, neraca analitik, *Aluminium foil*, *blender* Philips, *vortexer,* ayakan 65 *mesh*, desikator, labu pemisah, statif, cawan porselen, batang pengaduk, sudip, satu set alat *vacuum rotatory evaporator,* spektrofotometer UV-Vis, cawan petri, botol *vial,* pipet tetes, mikropipet (1000 µL, 200 µL, dan 10 µL), rak tabung, gelas arloji, dan alat- alat gelas dengan kualitas *pyrex*.

Bahan-bahan yang digunakan di antaranya umbi kuso mafola yang diperoleh dari Pulau Tidore Provinsi Maluku Utara, kertas saring, air distilasi, metanol, aluminium klorida 2%, reagen Folin Ciocalteau 50%, natrium karbonat 2%, vitamin C, dan 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH).

Prosedur Kerja

Preparasi Sampel

Sampel umbi kuso mafola dikupas dan diiris tipis. Setelah itu sampel dikeringkan selama 3 minggu. Setelah kering, sampel kemudian dihaluskan dengan blender dan diayak sehingga diperoleh serbuk halus. Sebanyak 320 gram serbuk umbi kuso mafola dimasukkan ke dalam wadah, kemudian dimaserasi dengan pelarut metanol sebanyak 1500 mL selama 3 x 24 jam sambil sesekali diaduk. Filtrate hasil maserasi kemudian disaring dan diuapkan untuk memperoleh ekstrak pekat.

Uji Aktivitas Antioksidan

Ekstrak dilarutkan dalam metanol (dibuat konsentrasi 1000 µg/mL). Larutan sampel yang telah dibuat diencerkan dengan variasi konsentrasi 100 µg/mL, 150 µg/mL, 200 µg/mL, dan 250 µg/mL dan dimasukkan sebanyak 0,5 mL ke dalam tabung reaksi sebagai larutan uji.

Ke dalam tabung reaksi ditambahkan larutan DPPH (konsentrasi 93 µM) sebanyak 1,5 mL dan divortex selama 2 menit. Larutan diinkubasi selama 30 menit dalam kondisi gelap. Setelah 30 menit diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV – Vis pada panjang gelombang 517 nm. Pengujian dilakukan dua kali, dan diambil nilai rataan % inhibisi untuk setiap sampel dalam berbagai variasi konsentrasinya. Dibuat kurva antara konsentrasi dengan % inhibisi untuk mendapatkan persamaan regresi yang akan digunakan untuk penentuan nilai IC_{50}.

Penentuan Kandungan Total Fenolik

Sebanyak 0,1 mL larutan ekstrak (konsentrasi 1000 µg/mL) dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Ke dalam tabung ditambahkan 0,1 mL reagen Folin-Ciocalteau 50% dan divortex selama 2 menit. Selanjutnya ditambahkan 2 mL larutan natrium karbonat 2% dan diinkubasi dalam ruangan gelap selama 30 menit. Setelah 30 menit absorbansi sampel dibaca dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 750 nm. Pengujian dilakukan sebanyak dua kali, dan masing - masing nilai absorbansi dimasukkan dalam persamaan regresi linear baku asam galat. Dihitung rataan total fenolik dari setiap sampel, dan dinyatakan sebagai ekivalen asam galat dalam mg/kg ekstrak.

Penentuan Kandungan Total Flavonoid

Sebanyak 1 mL larutan ekstrak umbi kuso mafola (konsentrasi 1000 µg/mL) dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Ke dalam tabung reaksi ditambahkan 2 mL aluminium klorida 2%. Campuran divortex selama 1 menit dan diinkubasi selama 30 menit. Setelah 30 menit dibaca absorbansinya pada panjang gelombang 415 nm. Pengujian dilakukan sebanyak dua kali, dan masing - masing nilai absorbansi dimasukkan dalam persamaan regresi linear baku kuersetin. Dihitung rataan total flavonoid dari setiap sampel, dan dinyatakan sebagai ekivalen kuersetin dalam mg/kg ekstrak.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Preparasi Sampel

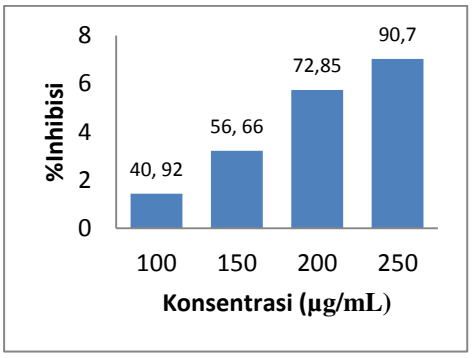
Sebelum diekstraksi, sampel umbi kuso mafola dikeringkan terlebih dahulu. Setelah kering, sampel dihaluskan dan diayak. Penghalusan dan pengayakan bertujuan untuk memperoleh serbuk yang homogen dengan luas permukaan yang besar sehingga senyawa aktif sampel dapat terekstraksi lebih baik.

Proses ekstraksi bertujuan untuk menarik senyawa aktif yang ada dalam sampel. Digunakan metanol karena pelarut tersebut dapat menarik senyawa polar maupun non polar dalam sampel (Cordell, 1981), sedangkan waktu ekstraksi tiga hari memungkinkan terjadinya kontak yang baik antara pelarut dengan sampel sehingga ekstraksi berlangsung secara optimal. Hasil ekstraksi berupa filtrat berwarna kuning disaring dan diuapkan

untuk memperoleh ekstrak. Hasil ekstrak yang didapatkan dari proses ekstraksi adalah sebanyak 27, 924 g dengan randemen 8,72 %. Ekstrak pekat berwarna coklat dengan konsistensi seperti pasta, dan lengket.

Uji Aktivitas Antioksidan

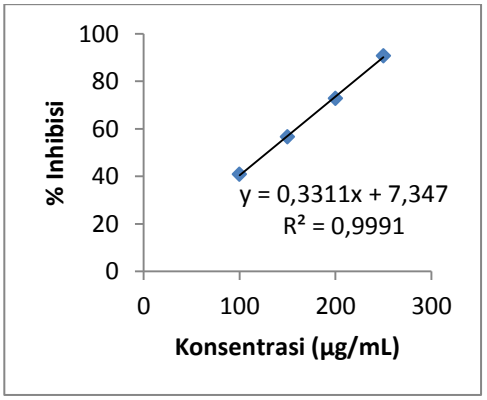
Uji aktivitas antioksidan dalam penelitian ini menggunakan metode DPPH. DPPH memiliki warna dasar ungu. Jika direaksikan dengan antioksidan, maka akan terjadi penurunan intensitas warna DPPH menjadi kuning. DPPH yang tersisa diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm. Nilai absorbansi dimasukkan dalam rumus perhitungan persen inhibisi.



Gambar 1. Persen inhibisi ekstrak metanol umbi kuso mafola berbagai konsentrasi

Dalam ekstrak terdapat lebih banyak senyawa fenolik dan flavonoid yang mendonorkan elektronnya, sehingga ada kemungkinan senyawa tersebut bekerja secara sinergis dalam penangkalan radikal bebas. Peningkatan konsentrasi sampel juga berpengaruh terhadap aktivitas antioksidan dari ekstrak. Berdasarkan hasil, dapat terlihat bahwa semakin besar konsentrasi sampel, maka daya hambatnya terhadap radikal DPPH semakin tinggi. Sebelumnya telah dilakukan penelitian oleh Prasanna dan Anuradha (2015) untuk menguji aktivitas antioksidan dari *Drynaria quercifolia* yang diperoleh dari India. Dengan konsentrasi ekstrak dan DPPH yang berbeda, hasilnya menunjukkan peningkatan aktivitas pada penambahan konsentrasi ekstrak, seperti pada sampel umbi kuso mafola yang diperoleh dari Tidore.

Hasil perhitungan persen inhibisi yang diperoleh selanjutnya dimasukkan ke dalam kurva antara persen inhibisi dengan konsentrasi untuk menentukan nilai IC_{50} sampel. Nilai IC_{50} menunjukan konsentrasi sampel yang diperlukan untuk menghambat 50% radikal bebas DPPH. Nilai IC_{50} dari ekstrak metanol umni kuso mafola adalah 128, 822. Dalam penelitian ini digunakan pembanding vitamin C. Nilai IC_{50} dari vitamin C adalah 13,597. Nilai IC_{50} umbi kuso mafola lebih rendah dibandingkan dengan vitamin C vitamin C merupakan senyawa murni.



Gambar 2. Kurva persamaan regresi aktivitas antioksidan ekstrak metanol umbi kuso mafola

Sebelumnya telah dilakukan penelitian oleh Prasanna dan Chitra (2014) untuk menguji aktivitas antioksidan dari *Drynaria quercifolia* yang diperoleh dari

India. Dengan konsentrasi ekstrak dan DPPH yang berbeda, hasilnya menunjukkan peningkatan aktivitas pada penambahan konsentrasi ekstrak.

Penentuan Kandungan Total Fenolik

Polifenol dalam ekstrak tumbuhan dapat bereaksi dengan reagen Folin-Ciocalteu membentuk kompleks berwarna biru yang dapat dideteksi dengan spektrofotometer UV-Vis. Penambahan larutan Na_2CO_3 dimaksudkan untuk memberikan suasana basa agar reaksi dapat berlangsung lebih cepat (Agbor *et al.,* 2014). Hasil dari penelitian yang dilakukan menunjukkan bahwa semakin pekat warna biru yang dihasilkan, maka semakin besar kandungan senyawa fenolik, sehingga absorbansinya juga semakin tinggi.

Nilai absorbansi dimasukkan dalam persamaan regresi asam galat untuk memperoleh kandungan total fenolik. Hasil yang diperoleh berbanding lurus dengan hasil pengujian aktivitas antioksidan. Hal ini menunjukkan bahwa kandungan fenolik dalam sampel memberikan kontribusi terhadap aktivitas antioksidan. Semakin tinggi kandungan total fenolik, semakin besar aktivitas antioksidannya.

Penentuan Kandungan Total Flavonoid

Uji total flavonoid menggunakan larutan $AlCl_3$. Penambahan $AlCl_3$ dapat membentuk kompleks asam yang stabil pada flavon atau flavonol (Robinson, 1995). Flavonoid mengandung cincin aromatik yang terkonjugasi dan karena itu menunjukkan pita serapan yang kuat pada daerah spektrum UV dan spektrum tampak.

Kandungan total flavonoid jauh lebih rendah dibandingkan dengan total fenolik. Hal ini disebabkan senyawa flavonoid merupakan sub bagian dari fenolik. Hasil penentuan kandungan total flavonoid yang diperoleh mendukung hasil pengujian aktivitas antioksidan. Hal ini menunjukkan bahwa kandungan flavonoid dalam sampel memberikan kontribusi terhadap aktivitas antioksidan. Semakin tinggi kandungan total flavonoid, semakin besar aktivitas antioksidannya.

KESIMPULAN

a. Ekstrak metanol dari umbi kuso mafola memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} sebesar 128,822 µg/mL.
b. Kandungan total fenolik umbi kuso mafola adalah 97, 143 mg/kg, dan kandungan total flavonoid sebesar 4,45 mg/kg.

SARAN

Sebaiknya dilakukan uji toksisitas terhadap umbi kuso mafola.

DAFTAR PUSTAKA

Abdullah, W., M. R. J. Runtuwene., dan V. S. Kamu. 2014. Uji Fitokimia dan Penentuan Inhibition Concentration 50% pada Beberapa Tumbuhan Obat di Pulau Tidore. *Jurnal Ilmiah Sains*. **14:** 95 - 99.

Agbor, G. A., J. A. Vinson., dan P. E. Donnelly. 2014. Folin-Ciocalteu Reagen for Polyphenolic Assay. *International Journal of Food Science, Nutrition, and Dietetics.* **3:** 147 - 156.

Arief, S. 2006. *Radikal Bebas*. Bagian / SMF Ilmu Kesehatan Anak FK UNAIR / RSU Dr.Sutomo, Surabaya.

Cordell, G.A. 1981. *Introduction to Alkaloid Biogenetic Approach*. Jhon Willey and Sons, Inc., New York.

Dai, J., dan R. J. Mumper, 2010. Plant Phenolics: Extraction, Analysis, and Their Antioxidant and Anticancer Properties. *MDPI Molecules.* **15:** 7313 - 7352.

Hartini, S. 2006. Tumbuhan Paku di Cagar Alam Sago Malintang, Sumatra Barat dan Aklimatisasinya di Kebun Raya Bogor. *Biodeversitas*. **3:** 230 - 236.

Molyneux, P. 2004. The use of Stable Free Radical Diphenylpicrylhidrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidaant Activity. *Journal of Science and Technology*. **26:** 211-219.

Nejad, B. S. dan S.S. Deokule. 2009. Anti-Dermatophytic Activity of *Drynaria quercifoli* L. J. Smith. *Jundishapur Journal of Microbiology*. **1:** 25 - 30.

Prasanna, G., dan Anuradha, R. 2015. Evaluation of in vitro Antioxidant Activity of Rhizome Ekstract of *Drynaria quercifolia. International Journal of Chemical Technology Research.* **8:** 183 – 187.

Prasanna, G., dan M. Chitra, M. Phytochemical screening and GC-MS Analysis of *Drynaria quercifolia* Rhizome. *American Journal of Advance Drug Delivery.* **3:** 072 - 078.

Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tingkat Tinggi*. ITB, Bandung.

Ross, J. A., dan C. M. Kasum. 2002. Dietary Flavonoids: Bioavailability, Metabolic Effects, and Savety. *Annual Review of Nutrition.* **22:** 19 - 34.

Suryanto, E. 2012. *Fitokimia Antioksidan*. Putra Media Nusantara, Surabaya.

Valko, M., D. Leibfritz., M. Cronin., M. Mazur., dan J. Telser. 2007. Free Radicals and Antioxidants in Normal Physiological Functions and Human Disease. *The International Journal of Biochemistry and Cell Biology*. **39:**44 - 84.

Waterman, P.G., S. Mole. 1994. *Stucture and Biosynthesis of Phenolic Compounds*. Blackwell Scientific Publication, London.

Windono, T., S. Soediman, U. Yudawati, E. Ermawati, A. Srielita, dan T.I. Erowati. 2001. Uji Peredam Radikal Bebas Terhadap DPPH dari Ekstrak Kulit Buah dan Biji Anggur (*Vitis vinivera*) Probolinggo Biru dan Bali. *Artocarpus, Surabaya I.* **1:** 34-43.