

Pengaruh Metode Ekstraksi Terhadap Rendemen Dan Kadar Fenolik Ekstrak Tanaman Kayu Beta-Beta (*Lunasia amara Blanco*)

(The Effect of Extraction Method on Yield Value and Phenolic Content of Beta-Beta (Lunasia amara Blanco) Bark Extract)

Hasnaeni*, Wisdawati, Suriati Usman

Fakultas Farmasi, Universitas Muslim Indonesia, Makassar, Indonesia, 90231

Article Info:

Received: 3 September 2019

in revised form: 18 September 2019

Accepted: 9 October 2019

Available Online: 9 October 2019

Keywords:

Phenolic Content

Lunasia amara Blanco

Beta-beta bark

UV-Vis Spectrophotometry

Corresponding Author:

Hasnaeni

Laboratorium Farmakognosi

Fitokimia

Fakultas Farmasi

Universitas Muslim Indonesia

Makassar, 90245

email: hasnaeni.hasnaeni@umi.ac.id

ABSTRACT

Lunasia amara Blanco bark belonging to the family Rutaceae. The research aimed to determine the effect of extraction method on yield value and phenolic content of bark extract of *Lunasia amara Blanco* by UV-Vis spectrophotometry. Sample was extracted by maceration, reflux, and soxhlet using methanol 70%. The extraction by maceration obtained the yield value of methanol extract of 2,352%; the reflux method of 1,611%; and the soxhlet method of 0,960%. Then the chemical content was identified by the addition of FeCl₃ reagent and a blackish green color was formed positively indicating phenolic content. Afterward, phenolic identification was conducted by TLC with eluent n-hexane: ethyl acetate (2:8) containing phenolic because the R_f value was the same as the galic acid standard. The results showed that the extraction method producing the highest yield of bark extract of *Lunasia amara Blanco* was maceration. The phenolic content obtained by maceration was 66,548 mgGAE/g extract with 6.6548% GAE; the reflux was 73.645 mgGAE/g extract with 7.3645% GAE; and the soxhlet was 74.806 mgGAE/g extract with 7.4806% GAE.

Copyright © 2019 JFG-UNTAD

This open access article is distributed under a Creative Commons Attribution (CC-BY-NC-SA) 4.0 International license.

How to cite (APA 6th Style):

Hasnaeni, Wisdawati, & Usman, S. (2019). Pengaruh Metode Ekstraksi Terhadap Rendemen Dan Kadar Fenolik Ekstrak Tanaman Kayu Beta-Beta (*Lunasia amara Blanco*). *Jurnal Farmasi Galenika :Galenika Journal of Pharmacy*, 5(2), 175-182. doi:10.22487/j24428744.2019.v5.i2.13149

ABSTRAK

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah batang kayu beta-beta (*Lunasia amara* Blanco) yang termasuk dalam famili Rutaceae. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh metode ekstraksi terhadap rendemen dan kadar fenolik ekstrak batang kayu beta-beta (*Lunasia amara* Blanco) dengan spektrofotometri UV-Vis. Sampel diekstraksi dengan cara maserasi, refluks, dan sokhletasi masing-masing menggunakan pelarut metanol 70% dan diperoleh rendemen ekstrak metanol dari metode ekstraksi maserasi yaitu 2,352%, untuk metode refluks yaitu 1,611%, dan untuk metode sokletasi yaitu 0,960%, selanjutnya diidentifikasi kandungan kimia dengan penambahan pereaksi FeCl_3 dan terbentuk warna hijau kehitaman yang menandakan positif mengandung fenolik dan juga dilakukan uji identifikasi fenolik menggunakan KLT dengan eluen n-Heksan:etil asetat (2:8) dan menunjukkan mengandung fenolik karena nilai R_f nya sama dengan pembanding asam galat. Hasil penelitian menunjukkan bahwa metode ekstraksi yang menghasilkan rendemen yang paling tinggi dari ekstrak batang kayu beta-beta (*Lunasia amara* Blanco) adalah maserasi dan kadar fenolik yang diperoleh untuk metode maserasi sebesar 66,548 mgGAE/g ekstrak dengan persentase 6,6548% GAE, untuk metode refluks sebesar 73,645 mgGAE/g ekstrak dengan persentase 7,3645% GAE, dan untuk metode sokletasi sebesar 74,806 mgGAE/g ekstrak dengan persentase 7,4806% GAE.

Kata kunci: Kadar Fenolik, Batang Kayu Beta-beta, *Lunasia amara* Blanco, Spektrofotometri UV-Vis.

PENDAHULUAN

Masyarakat Indonesia telah menggunakan banyak tanaman sebagai obat tradisional, hampir semua bagian tanaman dimanfaatkan. Bagian tanaman yang biasa digunakan daun, batang, akar, rimpang, bunga dan bijinya.

Beragam aktivitas dari tumbuhan obat disebabkan karena adanya kandungan metabolit sekunder di dalamnya seperti fenolat, alkaloid, saponin, steroid, terpenoid, tanin dan sebagainya. Kandungan fenolik dalam tumbuhan berperan sebagai antioksidan alami yang dapat menangkal berbagai oksidan dan radikal bebas yang berbahaya bagi kesehatan (Balasundram, 2006).

Salah satu tanaman yang mengandung fenolik adalah tanaman kayu beta-beta (*Lunasia amara* Blanco) merupakan tanaman obat potensial yang berasal dari Kawasan Timur Indonesia yang saat ini tergolong langka. Tanaman kayu beta-beta diambil dari Kabupaten Barru yang biasanya digunakan sebagai obat kuat pada pria (aprodisiaka) dan anti inflamasi. Hal tersebut telah dibuktikan dari penelitian yang dilakukan Arnida *et al.*, (2003) yang menyatakan bahwa tanaman kayu beta-beta memiliki efek aprodisiaka, selain itu dari penelitian Hasnaeni *et al.*

(2016) menyatakan bahwa tanaman ekstrak kayu beta-beta memiliki efek anti inflamasi. Selain itu, tanaman kayu beta-beta (*Lunasia amara* Blanco) juga memiliki aktivitas antibakteri terhadap mikroba tuberculosis (Muscia *et al.*, 2014), dan juga memiliki efek antikanker (Zubair, 2010).

Senyawa aktif yang terdapat dalam batang kayu beta-beta yaitu alkaloida terpenoida dan fenolik (Arnida *et al.*, 2003). Selain itu, Sidik tahun 1999 (dikutip dalam Adhiyanto, 2001) menyebutkan bahwa kemaitan atau kayu beta-beta mengandung fitosterol, alkaloid (*edulein*, *graveolin*, *hidroksin*, *benakrin*, *limakridin*, *lunakrin*, *lunamarin*, *lunidonin*, dan *lunin*) dan flavonoid, dimana flavonoid ini merupakan turunan senyawa fenolik. Kemudian, pada penelitian Hasnaeni (2017) menyatakan bahwa batang kayu beta-beta mengandung senyawa kumarin yang merupakan turunan senyawa fenolik.

Untuk mendapatkan senyawa fenolik dari batang kayu beta-beta perlu dilakukan proses ekstraksi. Cara ekstraksi sangat mempengaruhi konsentrasi atau hilangnya efek terapi dari simplisia karena beberapa simplisia bersifat relatif stabil dan juga dapat terurai tergantung dari cara ekstraksi yang digunakan (Djamal, 2010).

Berdasarkan uraian diatas, maka telah dilakukan penelitian tentang pengaruh metode ekstraksi terhadap ekstrak batang kayu beta-beta (*Lunasia amara* Blanco) dan metode yang digunakan adalah maserasi, refluks dan sokletasi agar dapat diketahui metode ekstraksi yang menghasilkan rendemen yang tertinggi pada batang kayu beta-beta. Kemudian, dilakukan penentuan kadar fenolik terhadap ekstrak batang kayu beta-beta (*Lunasia amara* Blanco).

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan yaitu Alat-alat gelas (Pyrex®), alat sokletasi, alat refluks, bulk, cawan porselin, chamber, eksikator, kamera, pinset, pipa kapiler, pipet tetes, pipet volume, rotavapor (*Ika® RV 10 basic*), spektrofotometer UV-Vis (UV-1601 Shimadzu (Kyoto, Japan)), timbangan analitik (*carat series*), wadah maserasi (toples kaca).

Bahan-bahan yang digunakan adalah Aquadest, aluminium foil, asam galat, batang kayu beta-beta (*Lunasia amara* Blanco), etil asetat, FeCl_3 , kertas saring, lempeng KLT, metanol 70%, Na_2CO_3 , n-Heksan, silika gel, pereaksi Folin-ciocalteau, tissue.

Prosedur penelitian

Pengambilan dan pengolahan sampel

Sampel penelitian adalah batang tanaman kayu beta-beta (*Lunasia amara* Blanco) yang diperoleh dari Kabupaten Barru, Provinsi Sulawesi Selatan. Sampel yang dikumpulkan lalu dibersihkan dari kotoran-kotoran yang melekat selanjutnya dikeringanginkan. Setelah kering, sampel kemudian diserbukkan.

Ekstraksi sampel

Maserasi

Dimasukkan 300 gram serbuk simplisia batang kayu beta-beta (*Lunasia amara* Blanco) kedalam bejana maserasi, ditambahkan 1500 mL pelarut metanol 70%. Direndam selama 3 hari ditempat yang terlindung dari cahaya sambil sesekali diaduk, setelah itu disaring dengan kertas saring kemudian dilakukan remaserasi sebanyak 2 kali. Setelah itu, dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator*.

Refluks

Ditimbang seksama 300 gram serbuk simplisia batang kayu beta-beta (*Lunasia amara* Blanco), dimasukkan kedalam labu alas bulat 1000 mL, ditambahkan 1500 mL metanol 70%, direfluks pada suhu 40°C selama 3 jam, diangkat dan disaring. Lalu dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator*.

Sokletasi

Dipasang alat sokletasi, kemudian sampel sebanyak 300 gram dibungkus dengan kertas saring, kemudian dimasukkan ke dalam alat soklet, dimasukkan pelarut metanol 70% sebanyak 1500 mL kedalam labu soklet 1000 mL. Dilakukan sokletasi dengan suhu 40°C sampai tetesan siklus tidak berwarna lagi atau kurang lebih selama 3 jam. Ekstrak cair yang diperoleh kemudian dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator*.

Uji Kualitatif Fenolik

Uji fenolik

Ekstrak 100 mg dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan dengan pelarut metanol secukupnya, lalu ditambahkan 3 tetes larutan FeCl_3 . Terbentuknya warna hijau, merah, ungu, biru, dan hitam yang kuat menunjukkan adanya senyawa fenol dalam bahan (Alfian & Susanti, 2012).

Identifikasi fenolik

Ekstrak batang kayu beta-beta (*L. Amara* Blanco) dan pembanding asam galat dilarutkan dengan metanol kemudian ditotolkan masing-masing pada lempeng KLT (kromatografi lapis tipis) dan dielusi dengan menggunakan eluen n-Heksan : etil asetat (2:8). Setelah dielusi, lempeng KLT kemudian dilihat dibawah lampu UV 254 dan 366 nm dan selanjutnya dihitung nilai Rf. Jika nilai Rf sampel dan pembanding sama maka sampel mengandung fenolik (Marliani *et al.*, 2014).

Analisis Kuantitatif Senyawa Fenolik

Pembuatan Pereaksi Na_2CO_3 7%

Ditimbang sebanyak 3,5 g Na_2CO_3 , kemudian dilarutkan dengan aquadest hingga 50 mL (Ahmad *et al.*, 2015).

Pembuatan Larutan Standar Asam Galat

Larutan standar asam galat 100 ppm dibuat dengan menimbang 10 mg asam galat dilarutkan dengan metanol 70% hingga volume 100 mL. Dari larutan tersebut dipipet 1,5; 2; 2,5; 3; 3,5 mL dan dicukupkan dengan metanol hingga 10 mL, sehingga dihasilkan konsentrasi 15, 20, 25, 30 dan 35 ppm (Ahmad *et al.*, 2015).

Pembuatan Larutan Ekstrak Kayu Beta-beta

Ditimbang 20 mg ekstrak kayu beta-beta (*Lunasia amara* Blanco), kemudian dilarutkan dengan 20 mL metanol, sehingga dihasilkan larutan ekstrak kayu beta-beta dengan konsentrasi 1000 ppm (Ahmad *et al.*, 2015).

Penentuan Panjang Gelombang

Penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan dengan membuat larutan standar asam galat 100 ppm dengan cara menimbang 10 mg asam galat dilarutkan dengan metanol 70% hingga volume 100 mL. Kemudian dipipet 2 mL lalu ditambahkan 0,4 mL reagen Folin-Ciocalteu, kemudian dihomogenkan dan didiamkan selama 8 menit, lalu ditambahkan 4,0 mL larutan Na₂CO₃ 7% kemudian dikocok hingga homogen. Ditambahkan aquabidestillata hingga 10 mL, lalu didiamkan selama 2 jam pada suhu ruangan kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang 400-800 nm (Alfian & Susanti, 2013).

Pengukuran Larutan Standar Asam Galat

Untuk masing-masing konsentrasi 15, 20, 25, 30 dan 35 ppm ditambahkan 0,4 mL reagen Folin-Ciocalteu dikocok dan dibiarkan 4-8 menit, ditambahkan 4,0 mL larutan Na₂CO₃ 7% kocok hingga homogen. Ditambahkan aquabidestillata hingga 10 mL dan didiamkan selama 2 jam pada suhu ruangan. Diukur absorbansi pada panjang gelombang 748 nm, dibuat kurva kalibrasi hubungan antara konsentrasi asam galat (µg/mL) dengan absorbansi (Ahmad *et al.*, 2015).

Penetapan Kadar Fenolik Total

Penetapan kadar fenolik total batang kayu beta-beta (*Lunasia amara* Blanco). Dipipet sebanyak 2 mL larutan ekstrak batang kayu beta-beta, kemudian sampel ditambahkan dengan 0,4 mL reagen Folin-Ciocalteu dikocok dan dibiarkan 4-8 menit, ditambahkan 4,0 mL larutan Na₂CO₃ 7% kocok

hingga homogen. Tambahkan aquabidestillata hingga 10 mL dan didiamkan selama 2 jam pada suhu ruangan. Ukur serapan pada panjang gelombang 748 nm. Dilakukan 5 kali pengulangan sehingga kadar fenol yang diperoleh hasilnya didapat sebagai mg ekuivalen asam galat/g ekstrak (Ahmad *et al.*, 2015).

Analisis data rendemen ekstrak

Analisis data digunakan untuk mengetahui persentase ekstrak yang dihasilkan dari 100 gram simplisia batang kayu beta-beta (*Lunasia amara* Blanco).

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Bobot ekstrak (akhir)}}{\text{Bobot simplisia (awal)}} \times 100\%$$

Analisis data kadar fenolik

Kadar fenolik yang diperoleh dinyatakan sebagai penyetaraan asam galat (mgGAE/g ekstrak). Analisis data terlebih dahulu dilakukan dengan metode kurva standar, regresi linear $y = bx + a$ dibuat berdasarkan data absorbansi dan konsentrasi dari larutan standar. Kemudian dihitung total senyawa fenolik dengan rumus:

$$\frac{\text{Volume larutan} \times \text{konsentrasi awal (X)} \times \text{Faktor pengenceran}}{\text{Berat Ekstrak}}$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Masyarakatnya Sulawesi Selatan khususnya pada daerah kabupaten Barru menggunakan batang kayu beta-beta sebagai obat demam dengan cara direbus kemudian airnya diminum dan pada daerah Bone rebusan kayu beta-beta berkhasiat sebagai obat kuat pada pria, dari beberapa penelitian juga dapat digunakan sebagai antiinflamasi (Hasnaeni *et al.*, 2016).

Pada penelitian ini digunakan sampel batang kayu beta-beta yang diperoleh dari Desa Kamiri, Kecamatan Balusu, Kabupaten Barru, Sulawesi Selatan, yang telah melalui proses determinasi. Determinasi pada sampel dilakukan bertujuan untuk memastikan kebenaran jenis tanaman atau tumbuhan yang akan digunakan dalam penelitian. Dari hasil determinasi bahwa sampel tersebut merupakan jenis tanaman *Lunasia amara* Blanco.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menentukan rendemen dan kadar fenolik yang tertinggi berdasarkan beberapa metode ekstraksi yaitu

maserasi, refluks, dan soklet dengan menggunakan metode spektrofotometer UV-Vis.

Senyawa fenolik merupakan senyawa biologi aktif yang memiliki peran besar terhadap kepentingan manusia. Senyawa fenolik merupakan molekul yang bertindak sebagai antioksidan untuk mencegah penyakit jantung, mengurangi peradangan serta mengurangi tingkat mutagenesis pada sel manusia (Khoddami *et al.*, 2013).

Batang kayu beta-beta yang diperoleh, dibersihkan terlebih dahulu, kemudian dikeringkan pada ruangan yang terlindung dari sinar matahari. Sampel kemudian diserbukkan untuk memperkecil ukurannya dan memperluas area kontak antara serbuk simplisia dengan cairan penyari, sehingga kandungan zat aktifnya banyak tersari (Agustina *et al.*, 2014). Selanjutnya, simplisia batang kayu beta-beta diekstraksi dengan menggunakan metode maserasi, refluks dan soklet. Ketiga metode tersebut digunakan untuk mengetahui metode ekstraksi yang digunakan untuk sampel batang kayu beta-beta dengan melihat jumlah rendemen dan kadar fenolik yang paling tinggi. Pelarut yang digunakan untuk mengekstrak sampel kayu beta-beta adalah pelarut metanol, digunakan pelarut metanol karena pelarut ini hampir melarutkan senyawa organik yang ada pada sampel, mudah menguap sehingga mudah dihilangkan dari ekstrak ekstrak (Andayani, 2008). Pelarut yang bersifat polar mampu melarutkan fenol lebih baik sehingga kadarnya dalam ekstrak menjadi tinggi (Moein & Mahmood, 2010). Menurut Eskin & Przybylski. (2001), metanol merupakan pelarut yang paling baik dalam mengekstrak senyawa fenol.

Metode maserasi adalah metode ekstraksi cara dingin dan metode ini yang paling sederhana dimana cairan penyari akan menembus dinding sel tanaman dan akan masuk ke rongga sel yang mengandung zat aktif, sehingga zat aktif yang merupakan larutan terpekat akan didesak keluar dari sel karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif yang didalam sel dengan yang diluar sel (Wahyulianingsih *et al.*, 2016).

Metode refluks adalah metode ekstraksi dengan bantuan pemanasan. Hal yang sangat berpengaruh terhadap ekstraksi menggunakan refluks adalah adanya penambahan pemanasan dan pelarut yang digunakan akan tetap dalam keadaan segar karena adanya penguapan kembali yang terendam pada bahan. Ekstraksi refluks digunakan untuk

mengekstraksi bahan-bahan yang tahan terhadap pemanasan dan memiliki tekstur yang kasar seperti batang, biji, akar (Adrian, 2000).

Metode soklet yaitu metode ekstraksi panas dingin. Pada ekstraksi ini pelarut dan sampel ditempatkan secara terpisah. Prinsipnya adalah ekstraksi dilakukan secara terus-menerus menggunakan pelarut yang relatif sedikit. Bila ekstraksi telah selesai maka pelarut dapat diuapkan sehingga akan diperoleh ekstrak. Biasanya pelarut yang digunakan adalah pelarut-pelarut yang mudah menguap atau mempunyai titik didih yang rendah (Leba, 2017).

Ekstrak metanol yang diperoleh dari batang kayu beta-beta dengan metode maserasi sebanyak 7,057 gram, metode refluks sebanyak 4,8347 gram, dan metode sokletasi sebanyak 2,8805 gram. Sedangkan hasil rendemen dari metode maserasi sebanyak 2,352%, metode refluks sebanyak 1,611%, dan metode sokletasi sebanyak 0,960%. Hasil rendemen yang paling tinggi terdapat pada rendemen ekstrak maserasi diduga karena dari waktu ekstraksi yang dilakukan yaitu selama 3 hari kemudian dilakukan remaserasi sebanyak 2 kali jadi kemungkinan proses penarikan senyawanya lebih maksimal dibandingkan dengan metode lainnya. Hasil rendemen dari suatu sampel sangat diperlukan karena untuk mengetahui banyaknya ekstrak yang diperoleh selama proses ekstraksi. Selain itu, data hasil rendemen tersebut ada hubungannya dengan senyawa aktif dari suatu sampel sehingga apabila jumlah rendemen semakin banyak maka jumlah senyawa aktif yang terkandung dalam sampel juga semakin banyak. Sebagaimana yang telah dilaporkan Harbone (1987) bahwa tingginya senyawa aktif yang terdapat pada suatu sampel ditunjukkan dengan tingginya jumlah rendemen yang dihasilkan. Adapun hasil rendemen yang diperoleh dari ekstrak batang kayu beta-beta dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil perhitungan persen rendemen ekstrak metanol batang kayu beta-beta (*Lunasia amara* Blanco)

Metode ekstraksi	Berat sampel (g)	Berat ekstrak (g)	Rendemen ekstrak (%)
Maserasi		7,057	2,352
Refluks	300	4,8347	1,611
Soklet		2,8805	0,960

Uji kualitatif untuk mengetahui kandungan fenolik terhadap ekstrak metanol batang kayu beta-beta dilakukan dengan menggunakan uji tabung dengan penambahan pereaksi spesifik yaitu FeCl_3 . Ekstrak maserasi dilarutkan dengan metanol kemudian ditambahkan pereaksi FeCl_3 menghasilkan warna hitam pekat yang menunjukkan bahwa ekstrak maserasi mengandung senyawa fenolik. Ekstrak refluks dilarutkan dengan sedikit pelarut metanol kemudian ditambahkan dengan pereaksi FeCl_3 menghasilkan warna hijau kehitaman yang menunjukkan bahwa ekstrak tersebut mengandung senyawa fenolik. Dan selanjutnya, ekstrak soklet dilarutkan dengan sedikit pelarut metanol kemudian ditambahkan dengan pereaksi FeCl_3 juga menghasilkan warna hijau kehitaman yang menunjukkan bahwa ekstrak tersebut mengandung senyawa fenolik. Sebagaimana yang dilaporkan oleh Harbone (1987) bahwa uji fenolik dengan penambahan pereaksi FeCl_3 menunjukkan hasil positif yang ditunjukkan dengan terjadinya perubahan warna dari warna kecoklatan menjadi biru kehitaman, hijau kehitaman atau hitam pekat. Adapun hasil uji kualitatif senyawa fenolik ekstrak metanol kayu beta-beta dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil uji kualitatif senyawa fenolik ekstrak tanaman kayu beta-beta (*Lunasia amara* Blanco)

Metode ekstraksi	Uji fenolik (FeCl_3)	Hasil pengamatan	Berdasarkan literatur
Maserasi	+	Berwarna hitam pekat	Berwarna hijau kehitaman, hitam pekat (Harbone, 1987)
Refluks	+	Berwarna hijau kehitaman	
Soklet	+	Berwarna hijau kehitaman	

Keterangan:

(+) = mengandung senyawa fenolik

(-) = tidak mengandung senyawa fenolik

Analisis kualitatif dilakukan untuk memastikan adanya senyawa tanin dalam (Harbone 1987), ekstrak metanol batang kayu beta-beta mengandung senyawa fenolik yang dapat dideteksi dengan uji KLT menggunakan eluen n-Heksan:etil asetat (2:8). Hasil KLT dapat dilihat pada gambar 16 menunjukkan bahwa sampel metanol batang kayu

beta-beta mengandung senyawa fenolik karena nilai Rfnya sama dengan pembanding asam galat.

Selanjutnya dilakukan uji kuantitatif terhadap ekstrak metanol batang kayu beta-beta untuk menentukan kadar fenolik dengan menggunakan metode spektrofotometri. Metode ini dipilih karena mempunyai kepekaan analisis yang cukup tinggi, dapat menganalisis suatu zat dalam jumlah kecil, pengerjaannya mudah, sederhana, cukup sensitif dan selektif (Munson, 1991).

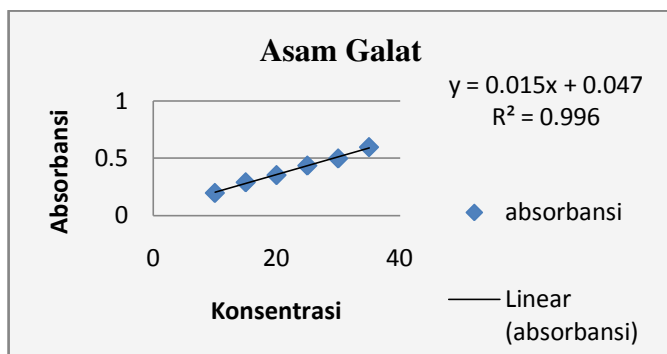
Penentuan kadar fenolik digunakan standar sebagai larutan pembanding yaitu asam galat. Penggunaan asam galat sebagai standar karena asam galat termasuk dalam senyawa fenolik turunan asam hidroksilbenzoat yang tergolong asam fenol sederhana dan juga memiliki ketersediaan substansi yang stabil dan murni (Syarif *et al.*, 2016).

Penetapan kadar fenolik juga digunakan reagen folin ciocalteau karena senyawa fenolik dapat bereaksi dengan Folin membentuk larutan berwarna yang dapat diukur absorbansinya. Prinsip dari metode folin-ciocalteau adalah terbentuknya senyawa kompleks berwarna biru yang dapat diukur pada panjang gelombang maksimal. Pereaksi ini mengoksidasi fenolat (garam alkali) dan gugus fenolik-hidroksi mereduksi asam heteropoli (fosfomolibdat-fosfotungstat) yang terdapat dalam pereaksi Folin-ciocalteau menjadi suatu kompleks molybdenum-tungsten (Alfian & Susanti, 2012). Senyawa fenolik bereaksi dengan reagen hanya dalam suasana basa agar terjadi disosiasi proton pada senyawa fenolik menjadi ion fenolat, sehingga ditambahkan larutan Na_2CO_3 (Apsari *et al.*, 2011).

Dalam penentuan kadar fenolik, langkah awal yang dilakukan adalah penentuan panjang gelombang maksimal dengan cara mengukur absorbansi larutan standar pada panjang gelombang 400-800 nm. Dan pada penelitian ini diperoleh panjang gelombang maksimal untuk larutan standar adalah 748 nm. Larutan standar dengan konsentrasi 15, 20, 25, 30, dan 35 ppm kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang 748 nm yang diperoleh dari pengukuran absorbansi tertinggi dari asam galat yang diukur menggunakan spektrofotometri. Adapun hasil pengukuran absorbansi asam galat dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Hasil pengukuran absorbansi larutan standar asam galat

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi
10	0,197
15	0,290
20	0,353
25	0,436
30	0,498
35	0,597



Gambar 1. Kurva kalibrasi asam galat

KESIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa:

1. Metode ekstraksi berpengaruh terhadap rendemen ekstrak dari batang kayu beta-beta (*Lunasia amara* Blanco). Metode maserasi menghasilkan rendemen yang paling tinggi yaitu sebesar 2,352%, kemudian refluks sebesar 1,611%, dan soklet 0,960%.
2. Metode ekstraksi berpengaruh terhadap kadar fenolik ekstrak batang kayu beta-beta (*Lunasia amara* Blanco). Kadar fenolik untuk metode maserasi sebesar 6,6548% GAE, untuk metode refluks sebesar 7,3645% GAE, dan untuk metode sokletasi sebesar 7,4806% GAE.

DAFTAR PUSTAKA

Adhiyanto, E. (2001). Kajian Beberapa Aspek Ekologi Kemaitan (*Lunasia amara* Blanco) di Tanaman Nasional Meru Betiri, Jawa Timur. Fakultas Kehutanan Institut Pertanian Bogor. Bogor.

Adrian, P. (2000). *Analisa Ekstraktif Tumbuhan Sebagai Sumber Bahan Obat*. Universitas Negeri Andalas Padang: Pusat Penelitian.

Agustina, T., Sunyoto, & Agustina, A. (2014). Penetapan Kadar Tanin Pada Daun Sirih Merah (*Piper Crocatum* Ruiz) Secara Spektrofotometri UV-VIS. *Journal Of Pharmacy Science*.

Ahmad, A.R., Juwita., Ratulangi, S. A. D., & Malik, A. (2015). Penetapan Kadar Fenolik dan Flavonoid Total Ekstrak Buah dan Daun Patikala (*Etlintera elatior* (Jack) R.M.SM). *Pharmaceutical Sciences and Research*, 2(1), 1-10.

Alfian, R., & Susanti, H. (2012). Penetapan Kadar Fenolik Total Ekstrak Metanol Kelopak Bunga Rosella Merah (*Hibiscus sabdariffa* L.) dengan Variasi Tempat Tumbuh secara Spektrofotometer UV-Vis. *Jurnal Ilmu Kefarmasian*, 2(1), 75-78.

Andayani, R. (2008). Penentuan Aktivitas Antioksidan Kadar Fenolat Total dan Likopen pada Buah Tomat (*Solanum lycopersicum* L.). *Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi*, 13(1).

Apsari, Pramudita, D., & Susanti, H. (2011). Penetapan Kadar Fenolik Total Ekstrak Metanol Kelopak Bunga Rosella merah (*Hibiscus sabdariffa* Linn) dengan Variasi Tempat Tumbuh secara Spektrofotometri. *Jurnal Ilmiah Kefarmasian*, 2(1).

Arnida, Donatus, I. A., & Wahyuono, S. (2003). Isolasi fraksi aktif afrodisiaka dari kayu beta-beta (*Lunasia amara* Blanco). *Majalah Farmasi Indonesia*, 14(4).

Balasundram, N., Sundram, Kk., & Samman, S. (2006). Phenolic compounds in plants and agriindustrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*, 99.

Djamal, R. (2010). *Kimia Bahan Alam: Prinsip-Prinsip Dasar Isolasi dan Identifikasi*. Padang: Universitas Baiturrahmah.

- Eskin, N. A. M., & Przybylski, R.. (2001). *Antioxidants and Shelf Life of Foods*. Florida: CRC Press LLC.
- Harborne, J. B. (1987). *Metode Fitokimia, Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan. (Edisi II)*. Bandung: Penerbit ITB.
- Hasnaeni, Sudarsono, Arief, N., & Sitarina, W. (2016). Kajian Efek Anti Radang Kayu Beta-beta (*Lunasia amara* Blanco). *PHARMACON Jurnal Imiah Farmasi*, 5(2).
- Hasnaeni. (2017). Aktivitas Anti Inflamasi Ekstrak Etanol Kayu Beta-beta (*Lunasia amara* Blanco) pada Mencit Model Rheumatoid Arthritis dan Identifikasi Senyawa Penanda. Fakultas Ilmu Farmasi Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Khoddami, A., Wilkes, M. A., & Roberts, T. H. (2013). Technique For Analysis of Plant Phenolic Compound. *Molecule* 18, 2328.
- Leba, M. A. U. (2017). *Ekstraksi dan Real Kromatografi*, Yogyakarta: Deepublish.
- Marliani, L., Sari, N. I., & Yuniarti, S. (2014). Aktivitas Antioksidan dan Kandungan Senyawa Fenolat Biji Jamblang (*Syzygium cumini* (L.) Skeels). *Jurnal Farmasi Galenika*, 01(02), 43-47.
- Moein, S., & Mahmood, M. R. (2010). Relationship between antioxidant properties and phenolics in *Zhumeria majdae*. *Journal of Medical Plants Research*, 4(7), 517-521.
- Munson, J. W. (1991). *Analisis Farmasi Metode Modern*. Surabaya: Airlangga University Press.
- Muscia, G. C., Buldain, G. Y., & Asis, S. E. (2014). Design, Syntesis and Evaluation of Acridine and Fused-Quinolone Derrivates as Potensial Anti-tuberculosis Agents. *Eur. J. Med. Chem.*, 73.
- Syarif, R. A., Sari, F., & Ahmad, A. R. (2016). Rimpang Kecombrang (*Etlingera elator* Jack.) Sebagai Sumber Fenolik. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 2(2), 104-105.
- Wahyulianingsih, Handayani, S., & Malik, A. (2016). Penetapan kadar Flavonoid Total Ekstrak Daun Cengkeh (*Syzygium aromaticum*(L.) Merr dan Perry). *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 3(2), 189.
- Zubair, M. S., & Subehan. (2010). Molecular Docking of Lunacridine from *Lunasia amara* to DNA: Its Inhibiton and Interaction Study Correlated with the Cytotoxic Activity on P388 Murine Leukemia Cells. *Indonesian Journal of Cancer Chemoprevention*, 1(2).