

Penetapan Kadar Fenolik Total pada Fraksi *n*-Heksana, Etil Asetat, Air dan Ekstrak Daun Bayam Merah (*Amarantus gangeticus* Hort) dengan Metode Folin-Ciocalteu

Determination of Total Phenolic Content of *n*-Hexane, Ethyl Acetate, and Water Fractions of Ethanolic Extract of Red Spinach by Folin-Ciocalteu

FITRI PUJIATI, FRANSISKA LEVIANA*

Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi
Jln. Letjen Sutoyo-Mojosongo Surakarta-57127 Telp. 0271-852518
* Korespondensi: fransiska.leviana@gmail.com

(Diterima 30 Januari 2012, disetujui 3 Maret 2012)

ABSTRAK

Daun bayam merah (*Amarantus gangeticus* Hort) merupakan salah satu tumbuhan yang mengandung senyawa fenol yang memiliki manfaat sangat besar bagi manusia. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui kadar fenolik total yang terkandung di dalam fraksi *n*-heksana, etil asetat, air, dan ekstrak etanolik pada daun bayam merah. Daun bayam merah diekstraksi secara maserasi dengan etanol 70%, kemudian difraksinasi dengan *n*-heksana, etil asetat, dan air. Ekstrak dan fraksi kemudian dianalisis kadar fenolik totalnya menggunakan metode Folin-Ciocalteu. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar fenolik setara dengan asam galat pada ekstrak etanolik $4,05\% \pm 0,175$; fraksi *n*-heksana $2,15\% \pm 0,045$; etil asetat $11,03\% \pm 0,290$; dan air $4,4\% \pm 0,180$ pada daun bayam merah (*Amarantus gangeticus* Hort).

Kata kunci : Daun bayam merah, *Amaranthus gangeticus* Hort., Folin-Ciocalteu, fenolik total.

ABSTRACT

Red spinach leaves (*Amarantus gangeticus* Hort) is one of plant that contain phenolic compound which has benefit for human. The aim of this study was to determine total phenolic content on *n*-hexane, ethyl acetate, and water fractions of ethanolic extract of red spinach by Folin-Ciocalteu. Red spinach leaves were macerated by ethanol 70%, than were fractionated by of *n*-hexane, ethyl acetate, and water. Extract and fractions were analyzed the total phenolic content by Folin-Ciocalteu method. The study showed that total phenolic content of red spinach were (4,05% ± 0,175) GAE for ethanolic extract; (2,15% ± 0,045) GAE for *n*-hexane fraction, (11,03% ± 0,290) GAE for ethyl acetate fraction; (4,4% ± 0,180) GAE for water fraction.

Keywords : red spinach, total phenolic, Folin-Ciocalteu.

PENDAHULUAN

Daun bayam mengandung senyawa fenol yang merupakan salah satu komponen kimia tumbuhan yang memiliki manfaat sangat besar bagi manusia. Senyawa fenol memiliki cincin aromatik dengan satu atau lebih gugus hidroksil. Senyawa fenol mencakup beberapa golongan senyawa bahan alam, di antaranya flavonoid, fenil propanoid, kuinon fenolik, lignin, melanin, dan tanin (Nacz & Fereidon 2004).

Senyawa fenol dalam tanaman sering dikaitkan dengan berbagai aktivitas tumbuhan dan farmakologinya di antaranya sebagai antiinflamasi, menangkal radiasi sinar UV, kelainan darah, desentri bahkan sebagai astringen, diuretik, perdarahan dan agen hepatoprotektif (Nacz & Fereidon 2004). Senyawa fenolik berfungsi sebagai antioksidan alami (Rahman *et al* 2008). Fenol juga dapat digunakan sebagai zat pengawet alami, pewarna, perasa pada suatu produk (Pandey & Syed 2009). Sayuran dan buah yang mengandung fenol dapat dihubungkan dengan rendahnya resiko degeneratif beberapa penyakit, seperti kanker dan penyakit kardiovaskuler (Amin *et al* 2006).

Penetapan kadar fenolik total dapat dilakukan menggunakan metode Folin-Ciocalteu. Prinsip metode Folin-Ciocalteu adalah oksidasi gugus fenolik hidroksil. Pereaksi ini mereduksi fenolat (garam alkali), mereduksi asam heteropoli menjadi suatu kompleks molybdenum-tungsten (Mo-W). Fenolat terdapat pada larutan basa, tetapi pereaksi Folin-Ciocalteu dan produknya

tidak stabil pada kondisi basa (Singleton dan Rossi 1965).

Fraksinasi adalah metode pemisahan yang bertujuan untuk memisahkan golongan utama kandungan kimia yang satu dari golongan yang lain. Pemisahan kandungan kimia ini berdasarkan polaritas atau sifat kelarutannya yang berbeda-beda pada jenis tumbuhan, senyawa yang bersifat polar akan masuk ke pelarut polar, begitu juga senyawa yang bersifat nonpolar akan masuk ke pelarut nonpolar (Harborne 1987).

Tujuan penelitian ini yaitu untuk mengetahui kadar fenolik total yang terkandung dalam fraksi *n*-heksana, etil asetat, air, dan ekstrak etanol dari daun bayam merah (*Amaranthus gangeticus* Hort).

METODE PENELITIAN

Bahan

Bahan sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun bayam merah yang berasal dari tanaman bayam merah yang ditanam di daerah Tawangmangu, Kabupaten Karanganyar, Jawa Tengah. Bahan penyari adalah *n*-heksana (Brataco), etil asetat (Brataco), aquadest dan etanol 70%. Bahan analisa kuantitatif: asam galat (Sigma), reagen Folin-Ciocalteu (Merck, Germany), etanol 70%, Na₂CO₃ (Merck, Germany), metanol pa (Merck, Germany), aquades.

Alat

Alat penyarian adalah bejana untuk maserasi, *vaccum rotaevaporator* (Heidolph type: Helzbed HB digit) dan beaker gelas, spektrofotometer (Shimadzu UV-1201), kuvet, *Moisture*

balance (Ohaus), *stopwatch*, timbangan analitik (Ohaus Adventure Pro AV264), pipet volume, *beaker glass*, labu takar, batang pengaduk.

Pembuatan Ekstrak Etanolik Daun Bayam Merah

Serbuk bayam merah kering sebanyak 500 g dimasukkan dalam bejana lalu ditambah dengan etanol dengan perbandingan 1: 7,5 etanol 70%, ditutup dan dibiarkan selama 5 hari terlindung dari cahaya, sambil diaduk berulang-ulang. Setelah 5 hari diserkai ampas diperas. Ampas ditambah cairan penyari 2,5 bagian etanol diaduk dan diserkai. Setelah itu filtrat dipisahkan dengan ampas menggunakan corong Buchner. Filtrat yang diperoleh dipekatkan dengan *vaccum rotaevaporator* pada suhu 40°C sampai diperoleh ekstrak etanolik daun bayam merah.

Pembuatan Fraksi *n*-Heksana, Etil Asetat, dan Air

Ekstrak etanol yang diperoleh kemudian disuspensi dengan aquadest 75 ml dan difraksinasi dengan *n*-heksana 75 ml sebanyak tiga kali menggunakan corong pisah. Sari *n*-heksana selanjutnya dikumpulkan kemudian diuapkan di atas *waterbath*, sari *n*-heksana yang kering ini disebut fraksi *n*-heksana. Lapisan berair sisa fraksinasi dengan *n*-heksana kemudian difraksinasi dengan 75 ml etil asetat sebanyak tiga kali. Lapisan etil asetat dipisahkan dan dipekatkan pada *waterbath* dan diperoleh fraksi etil asetat. Bagian bebas etil asetat dan *n*-heksana (fase air) diuapkan di atas *waterbath* disebut fraksi air.

Penentuan *Operating Time*

Dipipet 0,1 ml dari larutan asam galat dengan konsentrasi 300 ppm ditambah aquadest 7,9 ml ditambah reagen Folin-Ciocalteu 0,5 ml dikocok sampai homogen. Didiamkan selama 8 menit, lalu ditambah 1,5 ml larutan Na₂CO₃ 20% kocok sampai homogen kemudian baca absorbansinya selama 2 jam. Kemudian dibuat grafik antara waktu dan absorbansi, lalu ditetapkan *operating time* nya (Waterhouse 2002).

Penentuan λ maksimum

Dipipet 0,1 ml dari larutan asam galat 300 ppm ditambah aquadest 7,9 ml ditambah reagen Folin-Ciocalteu 0,5 ml, dikocok sampai homogen. Didiamkan selama 8 menit, lalu ditambah 1,5 ml larutan Na₂CO₃ 20% kocok sampai homogen, lalu didiamkan selama 2 jam. Absorbansinya dibaca pada panjang gelombang 600-900 nm, kemudian dibuat grafik antara panjang gelombang dan absorbansi kemudian ditetapkan λ maksimumnya.

Pembuatan Kurva Baku

Asam galat dibuat enam seri konsentrasi: 100, 200, 300, 400, 500, 600 ppm. Masing-masing konsentrasi asam galat dipipet 0,1 ml ditambah 7,9 ml aquadest ditambah 0,5 ml reagen Folin-Ciocalteu dan dikocok. Didiamkan selama 8 menit, lalu ditambah 1,5 ml larutan Na₂CO₃ 20% dan dikocok homogen. Didiamkan selama 2 jam pada suhu kamar. Ukur serapan pada panjang gelombang serapan maksimum, kemudian ditentukan persamaan regresi linearnya.

Penetapan Kadar Fenolik

Ditimbang 0,1 gram ekstrak etanol kemudian dilarutkan sampai 10 ml dengan metanol. Dipipet 0,1 ml larutan tersebut dan ditambah aquadest 7,9 ml ditambah reagen Folin-Ciocalteu 0,5 ml dan dikocok, dan didiamkan 8 menit, kemudian ditambah 1,5 ml larutan Na_2CO_3 20 % dan didiamkan selama 2 jam pada suhu kamar, kemudian diukur serapannya dengan spektrofotometer pada panjang gelombang serapan maksimum.

Perlakuan yang sama seperti ekstrak etanol tersebut, juga dilakukan terhadap fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air.

Analisa Data

Hasil pengukuran absorbansi sampel yang diperoleh selanjutnya digunakan untuk menghitung kadar fenolik total setara dengan asam galat pada bayam merah. Dihitung menggunakan metode regresi linear dari pembuatan kurva kalibrasi antara konsentrasi dan serapan yang diperoleh dengan menggunakan λ maksimum yang diketahui.

$$Y = a + bx \dots\dots\dots(1)$$

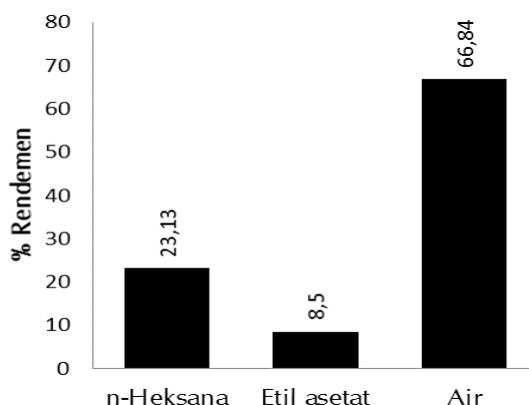
Y = serapan yang diperoleh

X = konsentrasi (ppm)

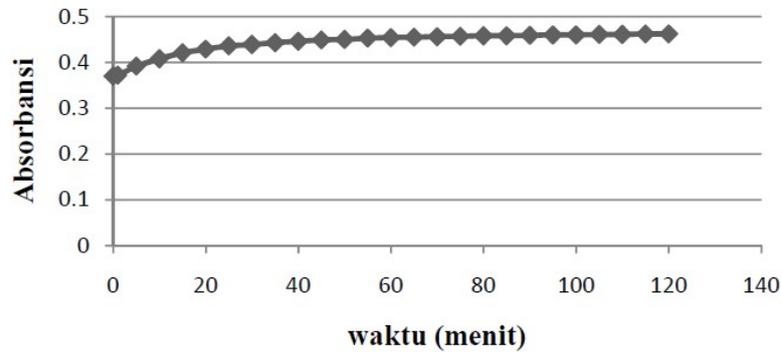
HASIL DAN PEMBAHASAN

Penyarian dilakukan dengan metode maserasi dan selanjutnya akan diperoleh sari. Penyarian dilakukan dengan pelarut etanol 70%. Ekstrak cair etanol diuapkan dengan alat *vaccum rotaevaporator* sehingga diperoleh ekstrak etanolik pekat. Hasil rendemen ekstrak daun bayam merah sebesar 9,44 %.

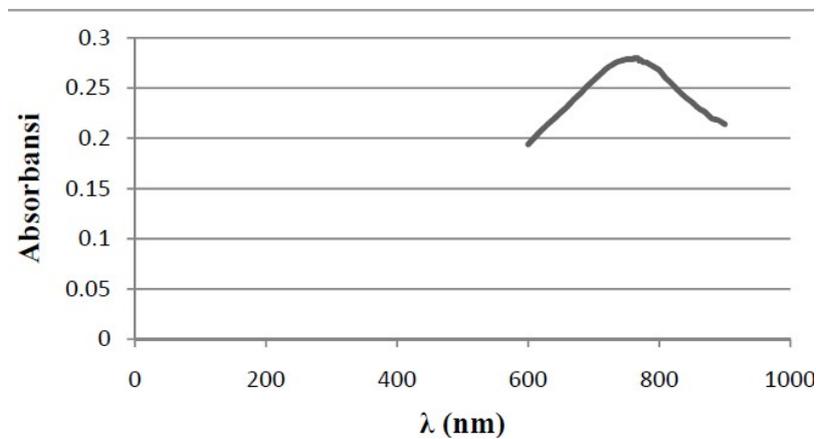
Ekstrak etanolik pekat difraksinasi dengan pelarut tiga pelarut yang berbeda polaritasnya. Pelarut yang digunakan adalah *n*-heksana sebagai pelarut nonpolar, etil asetat sebagai pelarut semipolar, dan air sebagai pelarut polar. Fraksinasi ini bertujuan untuk memisahkan senyawa-senyawa dalam bayam merah sesuai polaritasnya yaitu nonpolar, semipolar dan polar. Gambar 1 menunjukkan bahwa daun bayam merah paling banyak mengandung senyawa-senyawa polar dan paling sedikit adalah senyawa semipolar.



Gambar 1. Rendemen fraksi dari ekstrak etanolik daun bayam merah.



Gambar 2. Grafik hubungan waktu dan absorbansi asam galat.



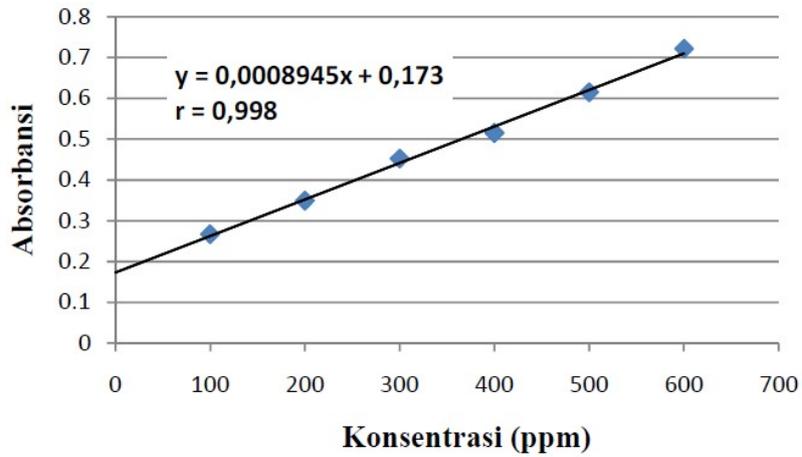
Gambar 3. Grafik hubungan panjang gelombang dan absorbansi asam galat.

Hasil penentuan *operating time* menunjukkan bahwa nilai absorbansi stabil mulai dari menit ke-115 sampai menit ke-120 (Gambar 2). Penelitian digunakan menit ke-120 sebagai *operating time*. Tujuan *operating time* adalah untuk mengetahui waktu pengukuran yang stabil.

Hasil penentuan dilakukan untuk mengetahui kapan λ maksimum panjang gelombang asam galat yang memberikan serapan maksimum. Dari Gambar 3 dapat diketahui bahwa panjang gelombang maksimum adalah 765 nm,

karena pada panjang gelombang inilah asam galat memberikan serapan terbesar.

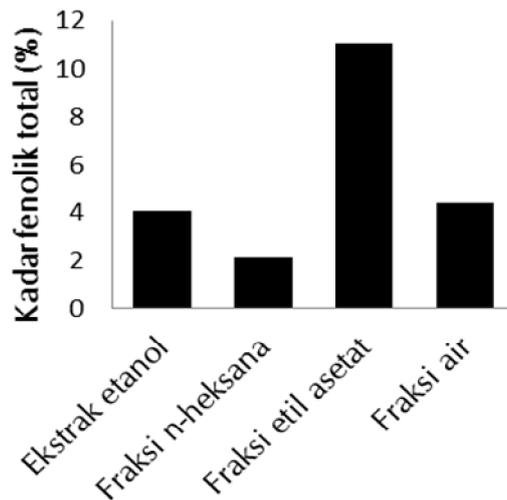
Asam galat digunakan sebagai standar karena asam galat merupakan salah satu jenis senyawa fenolik. Kurva baku yang diperoleh menunjukkan hasil yang linear dengan persamaan garis $y = 0,00089 + 0,173x$ dan $r = 0,998$ (Gambar 4). Regresi linear kurva baku ini kemudian digunakan untuk menghitung kadar fenolik total dalam sampel.



Gambar 4. Grafik hubungan konsentrasi dan absorbansi asam galat.

Tabel 1. Kadar fenolik total pada ekstrak etanolik, fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air daun bayam merah

Sampel	Kadar fenolik total (%) setara dengan asam galat
Ekstrak etanol	4,05 ± 0,175
Fraksi <i>n</i> -heksana	2,15 ± 0,045
Fraksi etil asetat	11,03 ± 0,290
Fraksi air	4,40 ± 0,180



Gambar 5. Kadar fenolik total pada ekstrak etanolik, fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air daun bayam merah.

Penetapan kadar fenolik dalam daun bayam merah dilakukan dengan metode Folin-Ciocalteu. Prinsip metode Folin-Ciocalteu adalah reaksi oksidasi dan reduksi kolorimetri. Pereaksi Folin-

Ciocalteu merupakan larutan kompleks ion polimetrik yang dibentuk dari asam fosfomolibdat dan asam heteropolifosfat. Pereaksi ini terbuat dari air, natrium tungstat, natrium

molibdat, asam fosfat, asam klorida, litium sulfat, dan bromine (Folin dan Ciocalteu 1944). Folin-Ciocalteu mengandung tungsten dan molybdenum oksida yang mampu mengoksidasi fenol. Logam yang mengalami reduksi akan berwarna biru dan memberikan serapan pada panjang gelombang 765 nm.

Kadar fenolik yang terkandung dalam tiap fraksi berbeda-beda tergantung dengan senyawa yang terikat didalam fraksi tersebut (Tabel 1 dan Gambar 5). Fraksi etil asetat lebih banyak kandungan senyawa fenolik, hal ini disebabkan karena senyawa flavonoid, alkaloid, tanin (Hutapea *et al* 1993) termasuk dalam pelarut semipolar, dimana senyawa tersebut terikat dalam pelarut semi polar yaitu etil asetat.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat ditarik kesimpulan bahwa : kadar fenolik total dalam daun bayam merah pada ekstrak etanol daun bayam merah 4,05, \pm 0,175 % setara dengan asam galat. Kadar fenolik total total dalam daun bayam merah pada fraksi n-heksan 2,15 \pm 0,045%; fraksi etil asetat 11,03 \pm 0,290%; fraksi air 4,40 \pm 0,180% setara dengan asam galat.

DAFTAR PUSTAKA

- Amin I, Norazaidah, Emmy Hanaida. 2006. Antioxidant activity and phenolic content of raw and blanched amaranthus species. *Food Chemistry*. 94(1):47–52.
- Folin O, Ciocalteu V. 1944. On tyrosine and tryptophane determinations in proteins. *Journal Bio Chem*. 73 : 627-650.
- Harborne. 1987. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan*. Kosasih P, Iwang S, penerjemah: Sofia N, editor. Bandung: Penerbit ITB. Terjemahan dari: *Phytochemical Methods*.
- Hutapea JR et al. 1993. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia (II)*, Jakarta: Departemen Kesehatan Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. Hlm 37.
- Nacz M, Fereidon S. 2004. Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of Chromatography A* 1054 (1-2): 95-111.
- Pandey KB, Syed IR. 2009. Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2(5): 270-278.
- Rahman A, Mizanur R, Mominul IS, Mashiar R, Shabab MS, Alam MF. 2008. Free radical scavenging activity and phenolic content of *Cassia sophera* L. *African Journal of Biotechnology* 7(10): 1591-1593.
- Singleton VL, and Rossi JA. 1965. Colorimetry of total phenolic with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagent. *Am. J. Enol. Vitic*. 16: 147.
- Waterhouse AL. 2002. Determination of total phenolics. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*. 11.1(1-11):18.

Petunjuk Penulisan Jurnal Farmasi Indonesia (Journal of Indonesian Pharmaceutical)

Jurnal Farmasi Indonesia menerima naskah tentang hasil penelitian laboratorium, lapangan, studi kasus, telaah pustaka yang erat kaitannya dengan bidang kefarmasian, kesehatan dan lingkungan hidup. Naskah dikirimkan ke bagian tata usaha Fakultas Farmasi Jurnal Farmasi Indonesia d/a Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Jl. Let.Jend Sutoyo Mojosongo, Surakarta 57127 telp: (0271) 852518, fax: (0271) 85327 atau email info@farmasiindonesia.setiabudi.ac.id.

Naskah yang dimuat merupakan hasil seleksi dan disetujui oleh Dewan Redaksi dan belum pernah dimuat di jurnal lain. Bagi penulis yang artikelnya dimuat harus membayar fee penerbitan sebesar Rp. 75.000,00.

Cara Penulisan : Abstrak ditulis dengan jarak 1 spasi dan huruf Times New Roman font 12, naskah ditulis dengan jarak 1,5 spasi dalam 1 kolom. Jumlah naskah keseluruhan maksimal 15 halaman dengan format atas dan kiri berjarak 4 cm kanan dan bawah 3 cm kertas HVS A4. *Softcopy* naskah dalam file *word*.

Naskah ditulis dalam bahasa Indonesia atau bahasa Inggris dengan urutan :

Judul (Title)

Judul harus singkat dan jelas

Nama Penulis (Author)

Penulis pertama^{1,*}, Penulis kedua, dst (nama lengkap tanpa gelar)

¹ Institusi

* Alamat korespondensi : kontak penulis berisi institusi, alamat (tidak harus), nomor telepon (tidak harus), kota, negara, email.

Abstrak (Abstract)

Abstrak ditulis dalam bahasa Indonesia dan bahasa Inggris (maksimal 200 kata), memuat uraian singkat tujuan, metode penelitian, hasil, dan kesimpulan.

Kata Kunci (Key word)

Kata kunci terdiri dari 1-5 kata yang dipisahkan dengan koma (,)

Pendahuluan (Introduction)

Pendahuluan memuat latar belakang, perumusan masalah dan tujuan penelitian.

Metode Penelitian (Materials and Methods)

Metode penelitian memuat bahan dan alat yang digunakan dalam penelitian dan jalannya penelitian.

Hasil dan Pembahasan (Results and Discussion),

Hasil dan Pembahasan digabung.

Hasil disajikan secara singkat, dapat didukung dengan tabel, grafik serta gambar/foto. Tabel harus utuh, jelas terbaca. Judul tabel di bagian atas dengan nomor urut angka arab. Gambar dapat dibuat terpisah dengan naskah besarnya antara ¼ -1 halaman, judul di bawah dengan nomor urut angka arab, siap dicetak dan bila direproduksi tetap jelas terbaca dengan segala ketentuan. Foto dapat diterima, asal jelas hitam putih, glossy dan bila berwarna diproduksi tidak berwarna.

Pembahasan mencakup tinjauan terhadap hasil penelitian dan dirujuk oleh literatur terkait.

Kesimpulan (Conclusion)

Kesimpulan menjawab tujuan penelitian dan disampaikan dalam bahasa yang ringkas.

Ucapan Terima Kasih (Acknowledgement)

Jika ada

Daftar Pustaka (References)

Pustaka dalam naskah ditulis pengarang dan tahun misal (Ansel 1989), (Cefalu & Padridge 1985), (Harnden *et al.* 2002). Daftar pustaka disusun secara alfabetis. Contoh :

Adsavakulchai S, Baimai V, Prachyabrued W, Gore PJ, Lertlum S. 1998. Morphometric study using wing image analysis for identification of *Bactrocera dorsalis* complex. *J. Biol.* 3(5). <http://epress.com/w3jbio/vol3/Adsavakulchai/index.html> [17 Mar 1999].

Ardiansyah. 2006. Isolasi karakterisasi molekular dan profil protein mikroorganisme hipertermofilik dari sumber air panas kawah Dieng, kawah Domas Tangkuban Perahu dan Baturaden [Thesis]. Yogyakarta: Pascasarjana Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada.

Cefalu WT & Padridge WM. 1985. Restrictive transport of a lipid-soluble peptide (Cyclosporin) through the blood-brain barrier. *J.Neurochem.* 45(1):1954-1956.

[Depkes RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1979. *Farmakope Indonesia*. Jilid III. Jakarta: Depkes RI.

Kuret JA, Murad F. 1990. Adenohypophyseal hormones and related substances. Di dalam: Gilman AG, Rall TW, Nies AS, editor. *The Pharmacological Basis of Therapeutics*. Ed ke-8. New York: Pergamon. 1334-1460.

Meyer B, Hermans K. 1985. Formaldehyde release from pressed wood products. Di dalam: Turoski V, editor. *Formaldehyde: Analytical Chemistry and Toxicology. Proceedings of the Symposium at the 187th; St Louis, 8-13 Apr 1984*. Washington: American Chemical Society. 101-116.

Pelczar MjJR, Chan ECS. 1986. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Volume 1. Hadioetomo RS, Imas T, Angka SL, penerjemah; Roodyn DB, editor. Jakarta: UI Press. Terjemahan dari: *Elements of Microbiology*. 120-200.

FORMULIR BERLANGGANAN JURNAL FARMASI INDONESIA

Yang bertanda tangan di bawah ini,

Nama :

Alamat rumah :

Alamat kantor :

No. Telp./HP :

E-mail :

Ingin berlangganan Jurnal Farmasi Indonesia selama tahun. Bersama ini kami kirimkan iuran langganan sebanyak Rp

(Terbilang)

melalui rekening tanggal

Harap jurnal tersebut dikirim ke alamat kantor/rumah*)

(.....)

Tanda tangan dan nama terang

*) Catatan: coret yang tidak perlu

Jumlah iuran:

- Tiap Nomor sebesar Rp. 30.000,- ditambah 20 % biaya pengiriman

- Langganan satu tahun Rp. 50.000,- ditambah 20 % biaya pengiriman

Setelah formulir diisi harap dikirim kembali kepada Jurnal Farmasi Indonesia

Rekening Bank. BNI Cab. Surakarta a.n. Fransiska Leviana. No.: 0222249148