

Pengaruh Cara Pengeringan dengan Microwave terhadap Perolehan Kadar Senyawa Fenolat dan Aktivitas Antioksidan dari Daun Dewa (*Gynura pseudochina* (Lour.), Merr.)

Zet Rizal, Deswati, dan Harrizul Rivai
Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi (STIFARM) Padang

Abstract

The research about the effect of microwave drying methods on content of phenolic compounds and antioxidant activity of *Gynura pseudochina*,(Lour.) Merr. have been done. The determination of phenolic compounds was carried out according to Folin-Ciocalteu method and antioxidant activity was evaluated by DPPH method, calculated as gallic acid equivalent (GAE). The research showed that the highest phenolic compounds and the strongest antioxidant activity obtained by microwave drying method compared by air drying method. The phenolic compounds each gram sample by using microwave drying is 1.673 mg phenolic compounds and antioxidant activities were calculated as the IC₅₀ at concentration 2.876 mg/mL.

Keywords : *Gynura pseudochina* (Lour.)Merr., phenolic compounds, antioxidant

Pendahuluan

Kandungan Flavonoid dari daun dewa merupakan antioksidan natural yang memperlihatkan berbagai efek biologi diantaranya anti alergi, anti virus, anti inflamasi, anti bakteri, anti trombotik dan sebagai vasodilator. Kandungan flavonoid inilah yang menjadi dasar akan ditelitinya kadar senyawa fenolat dari tumbuhan daun dewa (*Gynura pseudochina*,(Lour.), Merr.) dan berapa besar aktivitas antioksidan dari senyawa fenolat tersebut (Velioglo *et al*, 1998; Okawa *et al*, 2001).

Cara penyiapan sampel dapat dilakukan dengan dua cara yaitu sampel segar dan sampel kering. Perubahan kadar senyawa fenolat dalam ekstrak tumbuhan juga akan mempengaruhi aktivitas antioksidannya. Berdasarkan cara penyiapan sampel dapat diketahui apakah proses pengeringan daun dewa dengan menggunakan microwave berpengaruh terhadap kadar senyawa fenolat yang ada di dalam daun dewa tersebut atau tidak. Bila kadar senyawa fenolat berubah maka aktivitas antioksidan juga akan berubah (Javanmardi *et al*,2003).

Metoda yang digunakan pada penetapan kadar fenolat ini adalah metoda Folin-Ciocalteu, dimana reagen Folin-Ciocalteu merupakan salah satu pereaksi spesifik untuk senyawa fenol. Aktivitas antioksidan dapat dilakukan dengan metoda pengukuran serapan radikal DPPH (1,1- diphenyl – 2 – picrylhydrazyl). DPPH merupakan radikal

bebas yang stabil pada suhu kamar, sampel yang digunakan jumlahnya sedikit dan waktu yang digunakan singkat. Alat yang digunakan pada penentuan kadar senyawa fenolat dan aktivitas antioksidan ini adalah SpectrofotometriUV-Visibel (Waterhouse, 1999; Pourmorad *et al*, 2006).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pengeringan dengan microwave terhadap penentuan kadar senyawa fenolat dalam daun dewa (*Gynura pseudochina*,(Lour.)Merr.), juga untuk mengetahui aktivitas antioksidan dari senyawa fenolat tersebut.

Metode Penelitian

Alat

Microwave(Metrowealth), Spektrofotometer UV-Visibel mini 1240 (Shimadzu®).

Bahan

Daun dewa segar, air suling, natrium karbonat p.a.(Merck), asam galat p.a.(Sigma), etanol 96%, reagen fenol Folin-Ciocalteu (Merck), DPPH (1,1-diphenyl – 2 – picrylhydrazyl) (Sigma), metanol p.a. (Merck).

Pelaksanaan Penelitian

Pengambilan Sampel

Sampel berupa daun dewa (*Gynura pseudochina*,(Lour.), Merr.) yang diambil di daerah Pasir Jambak Kecamatan Koto Tangah, Padang Sumatera Barat. Sampel

yang diambil adalah daun tumbuhan (*Gynura pseudochina*, (Lour.), Merr.) yang segar. Sampel kemudian dicuci dengan air bersih, ditiriskan dan dipotong menjadi bagian yang kecil.

Perlakuan Sampel

a. Sampel Segar

Sampel yang telah dipotong menjadi bagian yang kecil, ditimbang sebanyak 5 gram, sesaat sebelum pembuatan larutan sampel (sampel 1).

b. Pengeringan angin pada suhu kamar ($\pm 25^{\circ}\text{C}$)

Sampel yang telah dipotong menjadi bagian yang kecil, diletakkan di atas koran kemudian dikering anginkan pada suatu ruangan yang tidak disinari matahari langsung. Sampel dikeringkan sampai diperoleh bobot konstan dan kadar air sampel tidak lebih dari 10%, kemudian ditimbang 1 g (sampel 2).

c. Pengeringan dalam Microwave

Sampel yang telah dipotong menjadi bagian yang kecil, dimasukkan ke dalam cawan penguap dan dikeringkan dalam microwave. Pengeringan dilakukan selama 2 menit dengan beberapa kali pengulangan, sampai diperoleh bobot konstan dan kadar air sampel tidak lebih dari 10%, kemudian ditimbang 1 gram (sampel 3).

Pembuatan Reagen

a. Larutan Natrium Karbonat 1 Molar

10,6 gram natrium karbonat dilarutkan dalam 100 mL air suling sehingga diperoleh konsentrasi 1 Molar, kocok sampai larut semuanya.

b. Pembuatan Larutan Induk Asam Galat 5 mg / mL

0,125 gram asam galat ditimbang lalu dimasukkan ke dalam labu ukur 25 mL, tambahkan 2,5 mL etanol 96 %. Kemudian tambahkan air suling sampai tanda batas.

c. Pembuatan Pereaksi DPPH 35 $\mu\text{g}/\text{mL}$

Ditimbang DPPH sebanyak 10 mg, dilarutkan dalam labu ukur 100 mL dengan metanol, cukupkan sampai tanda batas. Pipet 35 mL larutan tersebut, encerkan dengan metanol dalam labu ukur 100 mL sehingga diperoleh konsentrasi 35 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

d. Pembuatan Larutan Pembanding (Asam Galat)

Dari larutan induk asam galat (5mg/mL) dipipet 1 mL, diencerkan dengan metanol : air (1:1) dalam labu ukur 100mL sampai tanda batas, sehingga diperoleh larutan asam galat dengan konsentrasi 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Dari larutan ini dipipet 1; 2; 3; 4; dan 5 mL, diencerkan dengan metanol : air (1:1) dalam labu ukur 50 mL sampai tanda batas, sehingga diperoleh konsentrasi larutan asam galat 1, 2, 3, 4 dan 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

Pembuatan larutan Sampel (Hariana, 2005)

Sampel 1 direndam dengan 50 mL etanol 80% selama 15 menit. Kemudian dikocok dengan shaker selama 10 menit, lalu disaring dengan kertas saring (filtrat 1). Ampas direndam lagi dengan 50 mL etanol 80 % selama 15 menit, kemudian dikocok selama 10 menit. Lalu disaring dengan kertas saring (filtrat 2). Ampas dibilas lagi dengan 50 mL etanol 96 %, lalu disaring dengan kertas saring (filtrat 3). Ketiga filtrat digabung lalu diuapkan dengan rotary evaporator pada suhu $< 50^{\circ}\text{C}$ sampai kental. Selanjutnya ekstrak tersebut dilarutkan dalam campuran air suling : metanol (1:1) sampai 50 mL dalam labu ukur. Untuk sampel 2 dan sampel 3 pengerjaannya sama dengan sampel 1 tapi volume yang digunakan adalah 10 mL.

Penentuan Kadar Senyawa Fenolat dalam Larutan Sampel (United States Dep. of Agriculture, 1999)

a. Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimum Asam Galat – Folin Ciocalteu.

b. Penentuan Kurva Kalibrasi Asam Galat – Folin Ciocalteu

c. Penentuan Kadar Senyawa Fenolat dalam Larutan Sampel.

d. Penentuan % Perolehan Kembali Larutan Standar Asam Galat

Pipet 2 mL larutan sampel 100 mg/mL, tambahkan 2 mL larutan asam galat (50 $\mu\text{g}/\text{mL}$), kocok homogen. Dari larutan ini dipipet 0,5 mL, masukkan kedalam vial kemudian ditambahkan 5 mL reagen Folin-Ciocalteu (yang sudah diencerkan dengan air suling, (1: 10)). Tambahkan 4 mL natrium karbonat 1 M, kocok homogen. Diamkan selama 15 menit, kemudian ukur serapan pada panjang gelombang maksimum dengan

spektrofotometer UV-Visibel. Hitung konsentrasi larutan dengan menggunakan persamaan regresi asam galat.

Pipet 2 mL larutan sampel 100 mg/mL. Dari larutan ini dipipet 0,5 mL, masukkan ke dalam vial, kemudian tambahkan 5 mL reagen Folin-Ciocalteu (yang sudah diencerkan dengan air suling, (1: 10)). Tambahkan 4 mL natrium karbonat 1 M, kocok homogen. Diamkan selama 15 menit, kemudian ukur serapan pada panjang gelombang maksimum dengan spektrofotometer UV-Visibel. Hitung konsentrasi larutan dengan menggunakan persamaan regresi asam galat.

Hitung % perolehan kembali dengan menggunakan rumus :

$$\% \text{ Perolehan Kembali} = \frac{C_{s+a} - C_s}{C_a} \times 100\%$$

Pengukuran Aktivitas Antioksidan Larutan Sampel dengan Metoda DPPH (1,1- diphenyl – 2 – picrylhydrazyl) (Velioglo *et al*, 2008).

- a. Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimum DPPH
- b. Penentuan IC₅₀ Larutan Sampel
- c. Penentuan IC₅₀ Larutan Pembanding (Asam Galat)

Evaluasi Data

Data hasil penelitian akan diuji secara statistik menggunakan analisa variansi (Anova) satu arah. Karena pada pengujian dengan Anova satu arah, variansi tidak homogen maka kadar senyawa fenolat yang diperoleh pada sampel 1, sampel 2 dan sampel 3 diuji dengan non parametrik Kruskal-Wallis.

Pembahasan

Sampel segar diekstraksi dengan merendam 5 g sampel dalam 50 mL etanol 80% selama 15 menit, dikocok dengan shaker selama 10 menit dan disaring sehingga didapat filtrat 1. Ampas dicuci dan direndam lagi dengan 50 mL etanol 80% selama 15 menit, dikocok dengan shaker selama 10 menit dan disaring sehingga didapat filtrat 2. Ampas direndam lagi dengan etanol 96%, sebanyak 50 mL, sehingga didapat filtrat 3.

Hasil dan Pembahasan

Hasil

Dari penelitian yang dilakukan, diperoleh hasil sebagai berikut :

1. Pada penentuan panjang gelombang maksimum larutan asam galat 100 mg/mL dengan reagen Folin-Ciocalteu diperoleh serapan maksimum pada panjang gelombang 748 nm (Tabel I).
2. Penentuan kadar senyawa fenolat rata-rata pada larutan ekstrak daun dewa segar dihitung terhadap kering adalah 6,78 mg/g dengan simpangan baku 0,07 dan koefisien variansi 1,032 % (Tabel I).
3. Penentuan kadar senyawa fenolat rata-rata pada larutan ekstrak daun dewa yang di keringkan dengan angin adalah 0,487 mg/g dengan simpangan baku 0,0058 dan koefisien variansi 1,191 %. Penentuan kadar senyawa fenolat rata-rata pada larutan ekstrak daun dewa yang dikeringkan dengan microwave adalah 1,673 mg/g dengan simpangan baku 0,0058 dan koefisien variansi 0,347 %. Hasil perhitungan IC₅₀ pada penentuan aktivitas antioksidan dari larutan ekstrak daun dewa segar, dihitung terhadap bahan kering adalah 0,39775 mg/mL (Tabel II).
4. Hasil perhitungan IC₅₀ pada penentuan aktivitas antioksidan dari larutan ekstrak daun dewa yang dikeringkan dengan angin adalah 3,48845 mg/mL (Tabel II).
5. Hasil perhitungan IC₅₀ pada penentuan aktivitas antioksidan dari larutan ekstrak daun dewa yang dikeringkan dengan microwave adalah 2,87612 mg/mL (Tabel II).

Ketiga filtrat dicampur homogen, diuapkan dengan rotary evaporator pada suhu < 50 °C sampai didapat ekstrak kental. Ekstrak dilarutkan dengan campuran methanol : air (1 : 1) dalam labu ukur 50 mL, sebelum dianalisis (sampel 1). Selanjutnya sampel 2 dan sampel 3 masing – masing ditimbang sebanyak 1 g kemudian diekstraksi dan diperlakukan sama dengan sampel 1, tetapi jumlah volume yang dipakai adalah 10 mL.

Tabel I. Hasil Pengukuran Konsentrasi Senyawa Fenolat dari Daun Dewa dengan Spektrofotometer UV-Visibel Pada Panjang Gelombang 748 nm

No	Perlakuan	Absorban	Konsentrasi Senyawa Fenolat ($\mu\text{g/mL}$)	Kadar Senyawa Fenolat Dalam Daun Dewa (mg/g)	Kadar Senyawa Fenolat Dalam Daun Dewa Di Hitung Terhadap Bahan Kering (8,5%) (mg/g)
1	Tanpa pengeringan (segar)	0,387	58,0313	0,58	6,83
		0,380	56,9375	0,57	6,70
		0,386	57,875	0,58	6,81
\bar{x}			57,6146	0,576	6,78
SD			0,5915	0,00583	0,07
KV (%)			1,027	1,012	1,032
2	Pengeringan angin ($\pm 25^{\circ}\text{C}$)	0,323	48,0313	0,48	
		0,330	49,125	0,49	
		0,332	49,4375	0,49	
\bar{x}			48,8646	0,487	
SD			0,7383	0,0058	
KV (%)			1,511	1,191	
3	Pengeringan dalam microwave	0,549	83,344	1,67	
		0,554	84,125	1,68	
		0,550	83,500	1,67	
\bar{x}			83,6563	1,673	
SD			0,4132	0,0058	
KV (%)			0,494	0,347	

Dari pemeriksaan larutan standar asam galat, di dapat kurva kalibrasi dengan persamaan regresi $y = 0,0158 + 0,0064 x$ dan $r = 0,997$. Tujuan dari pembuatan kurva kalibrasi adalah untuk mencari konsentrasi dari masing – masing sampel, melalui persamaan regresi yang diperoleh. Hasil ini menunjukkan bukti yang menyatakan adanya hubungan konsentrasi dengan absorban. Konsentrasi larutan sampel dapat ditentukan dengan menggunakan persamaan regresi dari kurva kalibrasi dengan cara mengukur absorban sampel, kemudian dikonversikan dengan persamaan regresi dari kurva kalibrasi tersebut.

Kadar senyawa fenolat yang paling tinggi adalah sampel segar dihitung terhadap bahan kering kemudian dengan cara pengeringan

lebih baik kering microwave dibandingkan dengan kering angin, karena kadar senyawa fenolat kering microwave lebih tinggi dari pada kering angin. Hal ini disebabkan karena antara pengeringan microwave dan pengeringan angin terdapat perbedaan waktu dan lama pengeringan. Untuk melihat seberapa besar pengaruh cara pengeringan terhadap kadar senyawa fenolat sampel, maka dilakukan pengolahan data secara statistik.

Daya antioksidan dapat ditentukan dengan menggunakan metoda DPPH. Metoda ini dipilih karena mudah, cepat, peka, dan hanya memerlukan sedikit sampel. Senyawa yang mempunyai aktivitas antioksidan akan bereaksi dengan DPPH melalui pemberian elektron dari senyawa antioksidan kepada

DPPH yang mempunyai elektron sunyi, sehingga elektron tersebut menjadi berpasangan. Reaksi ini menyebabkan perubahan warna larutan DPPH dari ungu menjadi kuning. Perubahan warna inilah yang akan diukur serapannya dengan menggunakan spektrofotometer UV-Visibel. Semakin rendah serapan, semakin tinggi daya antioksidan dari larutan sampel. (Okawa *et al*, 2001).

Daya antioksidan dapat ditentukan dari nilai IC₅₀ yaitu konsentrasi senyawa antioksidan yang memberikan inhibisi sebesar 50%. Sebagai pembandingan digunakan larutan asam galat Daya antioksidan larutan sampel

segar, diukur dengan IC₅₀ sebesar 397,75 µg/mL, setara dengan 2,69 µg/mL senyawa fenolat. Sedangkan daya antioksidan larutan sampel kering angin dan kering microwave, diukur dengan IC₅₀ dimana masing-masingnya 3488,45 µg/mL dan 2876,12 µg/mL yang setara dengan 1,69 µg/mL dan 4,79 µg/mL senyawa fenolat. Nilai IC₅₀ yang semakin rendah menunjukkan daya antioksidan yang makin kuat. Nilai IC₅₀ yang paling rendah adalah sampel yang dikeringkan dengan microwave, artinya bahwa daya antioksidan dengan cara pengeringan ini adalah yang paling baik (Tabel II).

Tabel II. Persen Inhibisi DPPH oleh Larutan Sampel Daun Dewa dengan Tiga Perlakuan

Perlakuan	Konsentrasi Sampel (mg/mL)	Absorban Kontrol (DPPH + Metanol : Air)	Absorban Sampel + DPPH	Absorban Sampel + Metanol : Air	% Inhibisi	IC ₅₀ (mg/mL)	IC ₅₀ Dihitung Terhadap Bahan Kering (mg/mL)
Tanpa Pengeringan (Segar)	2	0,828	0,564	0,000	31,8841	4,67951	0,39775
	3,6		0,481	0,001	42,0281		
	5,2		0,398	0,002	52,1739		
	6,8		0,286	0,003	65,8212		
	8,4		0,199	0,004	76,4492		
Pengeringan Angin (± 25°C)	1	0,828	0,729	0,004	12,4396	3,48845	
	1,8		0,638	0,004	23,4299		
	2,6		0,542	0,005	35,1449		
	3,4		0,425	0,006	49,3961		
	4,2		0,328	0,006	61,111		
Pengeringan dalam Microwave	1	0,828	0,651	0,000	21,3768	2,87612	
	1,8		0,558	0,002	32,8502		
	2,6		0,460	0,003	44,8067		
	3,4		0,349	0,007	58,6957		
	4,2		0,251	0,009	70,7729		

Pengeringan dengan microwave memberikan kadar senyawa fenolat yang tinggi dan daya antioksidan yang kuat, bila dibandingkan dengan pengeringan angin. Hal ini disebabkan karena pada pengeringan dengan microwave proses pengeringan berjalan cepat dan waktunya singkat, sehingga penguraian senyawa fenolat lebih sedikit. Dengan demikian senyawa fenolatnya lebih tinggi. Sedangkan pengeringan dengan angin proses pengeringan berjalan lambat dan waktunya lebih lama, sehingga penguraian senyawa

fenolat lebih banyak. Dengan demikian kadar senyawa fenolatnya lebih rendah.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat diambil kesimpulan sebagai berikut :

1. Kadar senyawa fenolat yang paling tinggi diperoleh pada sampel yang dikeringkan dengan microwave yaitu 1,673 mg setara asam galat per gram sampel kering.

2. Analisa data menggunakan metoda Kruskal-Wallis menunjukkan nilai significant $< 0,05$ yang berarti bahwa perbedaan cara pengeringan yang dilakukan juga memberikan perbedaan yang signifikan terhadap kadar senyawa fenolat sampel.
 3. Daya antioksidan yang paling kuat ditunjukkan oleh sampel kering microwave, dimana dapat dilihat dari nilai IC_{50} yang diperoleh yaitu $2876,12 \mu\text{g/mL}$ setara dengan $4,79 \mu\text{g/mL}$ senyawa fenolat dalam sampel.
 4. Cara pengeringan sampel sangat berpengaruh terhadap penentuan kadar senyawa fenolat dan daya antioksidan sampel.
 5. Kadar senyawa fenolat yang makin tinggi pada sampel, juga memberikan daya antioksidan yang makin kuat.
 6. Nilai IC_{50} yang diperoleh dari pengukuran larutan standar asam galat adalah pada konsentrasi $0,947 \mu\text{g/mL}$
- Plants”, *Biol Pharm. Bull.* 24 (10), , 1202-1205.
- Pourmorad, F., S. J. Hosseinimehr, N. Shahabimajd, 2006, “Antioxidant Activity, Phenol and Flavonoid Content of Some Selected Iranian Medicinal Plants”, *African journal of Biotechnology*, Vol. 5 (11), 1142 – 1145.
- United States Department of Agriculture, 1999., “Sample Preparation for Phenolic Analysis”, <http://www.ars.usda.gov/is/np/phenolics/sppa.htm>, *United States*, 1 April.
- Velioglu, Y.S., G. Mazza, L. Gao, and B.D. Oomah. 1998., “Antioxidant Activity and Total Phenolics in Selected Fruits, Vegetables and Grain Products”, *J. Agric. Food. Chem.* 46, 4113 – 4117.
- Waterhouse, A., 1999., “Folin Ciocalteu Micro Method for Total Phenol in Wine”, *American Journal of Enology and Viticulture*, 28, , 1-3.

Daftar Pustaka

- Javanmardi, J., C. Stushnoff, E. Locke, and J.M. Vivanco, 2003, “Antioxidant Activity and Total Phenolic content of Iranian Ocimum accessions”, www.elsevier.com/locate/foodchem , 83, , 547-550.
- Keinanen, M., and R.J. Tiitto, 1996., “Effect of Sample Preparation Method on Birch (*Betula Pendula Roth*) Leaf Phenolics”, *J. Agric Food Chem*, 44, , 2724 – 2727.
- Lee, H.J., 2006,” *How Microwaves Work*”, Colorado University,US Patent 2495429,Newyork.
- Molyneux, P., 2004, “The Use of the Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity”, *Songklanakarin J. Sci. Technol.*, 26 (2), 211-219.
- Mosquera, O.M., Y. M. Correa, D. C. Buitrago, and J. Nino, 2007, “Antioxidant Activity of Twenty Five Plants from Colombian Biodiversity”, *Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*, Vol 102 (5), , 631 – 634.
- Okawa, M., J. Kinjo, T. Nohara, and M. Ono, 2001., “DPPH (1, 1 - Diphenyl – 2 - Picrylhydrazyl) Radical Scavenging Activity of Flavonoids Obtained from Some Medicinal