

Pengaruh Cara Pengeringan Oven Dan Microwave Terhadap Perolehan Kadar Senyawa Fenolat Dan Daya Antioksidan Dari Herba Meniran (*Phyllanthus niruri* L.)

Zet Rizal¹, Fitri Ledia¹, Harrizul Rivai¹

¹Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi (STIFARM) Padang

²Fakultas Farmasi, Universitas Andalas (Unand) Padang

Abstract

Effect of drying method in gaining of extractive, phenolic content and antioxidant activity from *Phyllanthus niruri* (Linn.) leaves have been investigated by UV-Visible spectrophotometric. The drying method tested were air-drying, microwave drying and oven drying at 40°C. The determination of phenolics compounds was carried out according to Folin Ciocalteu method and antioxidant activity was evaluated by DPPH as oxidant and gallic acid as reference. The determination of extractive compounds showed that the air-drying, microwave drying and oven drying at 40 °C contained 17.54 %; 11.84 %; 14.22 % with the water content 8.2%; 6.6%; 6.7%. The phenolic compounds 2,63900 %; 2,24585 %; 2,28095 %. Then IC₅₀ of the sample were 0.49 mg/mL, 0.51 mg/mL, 0.53 mg/mL respectively.

Keyword : antioxidant activity, phenolic content, Folin Ciocalteu and DPPH method

Pendahuluan

Radikal bebas dapat berasal dari dalam tubuh maupun dari luar tubuh. Radikal bebas dihasilkan dalam tubuh pada proses metabolisme terutama proses yang melibatkan oksigen. Dari luar tubuh, radikal bebas berasal dari sinar UV, asap rokok, ataupun polusi dari lingkungan lainnya. Antioksidan diketahui dapat menghambat kerja radikal bebas (Mosquera, 2007; Murugaiyah, 2008).

Antioksidan didefinisikan sebagai senyawa yang dapat menghambat proses oksidasi dengan cara bereaksi dengan radikal bebas reaktif membentuk radikal bebas tidak reaktif yang relative stabil. Sumber-sumber antioksidan dapat dikelompokkan menjadi dua kelompok, yaitu antioksidan sintetik (antioksidan yang diperoleh dari hasil sintesa reaksi kimia) antara lain BHA (butylated hydroxyanisole) dan BHT (butylated hydroxytoluene) dan antioksidan alami (antioksidan hasil ekstraksi bahan alami) antara lain vitamin C, vitamin E,

enzim-enzim alamiah seperti glutathione-peroxidase dan katalase. Selain itu senyawa fenolat seperti asam fenolat, polifenol dan flavonoid juga mempunyai aktifitas sebagai antioksidan yang banyak ditemukan dalam buah, sayuran dan tumbuhan obat. Senyawa antioksidan ini bekerja dengan mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa radikal bebas (Prakash, 2001; Pratiwi, 2006).

Meniran (*Phyllanthus niruri* L.) atau yang dikenal juga dengan nama sidukung anak adalah salah satu jenis tumbuhan obat Indonesia yang telah digunakan secara turun temurun untuk pengobatan berbagai jenis penyakit seperti diare, malaria, sariawan, diuretik, antitusif, ekspektoran, antihepatotoksik dan imunostimulator karena meniran tersebut banyak mengandung senyawa kimia seperti tanin, lignan, terpen, lipid, benzenoid, alkaloid, vitamin C dan vitamin K serta flavonoid. Kandungan flavonoid yang terdapat pada meniran menunjukkan aktivitas antioksidan antara lain dalam sistem proteksi hati dan peningkatan sistem imun (Bagalkokter, 2006; Hanani, 2005).

Penelitian ini bertujuan untuk melihat pengaruh cara pengeringan dengan microwave dan oven 40 °C terhadap penentuan rendemen, senyawa fenolat dan daya antioksidan pada tumbuhan meniran (*Phyllanthus niruri* L.).

Metoda Penelitian

Alat

Kertas koran, botol gelap, spatel, batang pengaduk, erlenmeyer, cawan penguap, gelas ukur, labu ukur, corong, kertas saring (Whatman no.1), pipet gondok, pipet mikro, kuvet, vial, aluminium foil, beaker gelas, timbangan analitik (Shimadzu AUX 220), seperangkat alat rotary evaporator (Buchi), destilasi vakum, desikator, oven (Mammert) dan spektrofotometer UV-Visibel mini 1240 (Shimadzu), microwave (Metrowealth).

Bahan

Herba meniran (*Phyllanthus niruri*, Linn.), air suling, natrium karbonat p.a (Merck), metanol, p.a (merck), asam galat p.a (Sigma), etanol 96%, reagen fenol Folin Ciocalteu (Merck) dan DPPH (Sigma).

Pembuatan Larutan Sampel

Sampel1, sampel 2 dan sampel 3 masing-masingnya ditimbang sebanyak 5 gram, tambahkan 50 mL etanol 80%, aduk. Diamkan selama 1 hari dengan sekali kali diaduk. Lalu disaring dengan menggunakan kertas saring Whatman No.1 (filtrat 1). Ampas direndam lagi dengan 50 mL etanol 80%, aduk. Diamkan selama 1 hari dengan sekali-kali diaduk, lalu disaring dengan menggunakan kertas saring Whatman No.1 (filtrat 2). Ampas direndam lagi dengan 50 mL etanol 80%, aduk. Diamkan selama 1 hari dengan sekali-kali diaduk. Lalu disaring dengan menggunakan kertas saring Whatman No.1 (filtrat 3). Lakukan pengulangan hingga diperoleh filtrat yang jernih. Kemudian filtrat digabungkan lalu diuapkan dengan Rotary Evaporator pada suhu 40°C sampai kental kemudian ekstrak

dilarutkan dalam labu ukur sampai 50 mL dengan campuran metanol : air suling (1 : 1) (Keinanen dan Titto, 1996).

Penentuan Rendemen dalam Larutan Sampel

Dari larutan sampel (50 mL) dipipet 10 mL kemudian masukkan dalam cawan penguap yang telah ditara sebelumnya, uapkan sampai kering diatas waterbath dan panaskan dalam oven 105°C selama 1 jam, masukkan dalam desikator selama ± 15 menit dan timbang. Ulangi pengerjaan hingga diperoleh bobot konstan.

Hitung rendemen menggunakan rumus :

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{mg berat ekstrak}}{\text{g berat sampel}}$$

Penentuan Kadar Senyawa Fenolat dalam Larutan Sampel (Poumarad *et al*, 2006)

1. Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimum Asam Galat - Folin Ciocalteu

Dipipet larutan induk asam galat (5 mg/mL) sebanyak 1 mL masukan kedalam labu ukur 50 mL lalu diencerkan dengan metanol : air suling (1 : 1) sampai tanda batas. Kemudian dipipet 0,5 mL dan masukan ke dalam vial, tambahkan 5 mL reagen Folin-Ciocalteu (diencerkan 1:10 dengan air suling) dan 4 mL natrium karbonat 1 M, kocok hingga homogen. Diamkan selama 15 menit. Ukur serapan pada panjang gelombang 400-800 dengan Spektrofotometer UV-Visible.

2. Penentuan Kurva Kalibrasi Asam Galat – Folin Ciocalteu

Dari larutan induk asam galat 5 mg/mL dipipet sebanyak 0,5; 1; 1,5; 2; 2,5 mL. Kemudian diencerkan masing-masingnya dengan air suling dalam labu ukur 100 mL sampai tanda batas.

Sehingga diperoleh konsentrasi 25, 50, 75, 100, 125 µg/mL asam galat.

Masing-masing konsentrasi larutan dipipet sebanyak 0,5 mL, masukkan kedalam vial, tambahkan 5 mL reagen Folin-Ciocalteu (diencerkan dengan air suling 1:10) dan 4 mL Natrium Karbonat 1M, kocok homogen. Diamkan selama 15 menit, masukkan kedalam kuvet. Ukur serapan pada panjang gelombang 749 nm dengan spektrofotometer UV-Visibel dan buat kurva kalibrasi sehingga persamaan regresi linearnya dapat dihitung.

3. Penentuan Kadar Senyawa Fenolat dalam Larutan Sampel

Pipet 0,5 mL larutan sampel masukan kedalam vial kemudian tambahkan 5 mL reagon Folin-Ciocalteu (diencerkan 1 : 10 dengan air suling) dan 4 mL larutan natrium karbonat 1M, kocok hingga homogen. Diamkan selama 15 menit hingga berbentuk warna kompleks biru masukan kedalam kuvet. Ukur serapan pada panjang gelombang 749 nm dengan Spektrofotometer UV-Vesible, lakukan tiga kali perulangan. Tentukan kadar senyawa fenolat dengan kurva kalibrasi.

4. Penentuan % Perolehan Kembali Larutan Standar Asam Galat

Pipet sebanyak 1 mL larutan sampel (1 mg/mL), masukkan kedalam vial. Tambahkan 1 mL larutan asam galat (50 µg/mL), kocok homogen. Lalu larutan ini dipipet sebanyak 0,5 mL, masukkan kedalam vial. Tambahkan 5 mL reagen Folin-Ciocalteu (diencerkan dengan air suling 1:10) dan 4 mL Natrium Karbonat 1M, kocok homogen. Diamkan selama 15 menit, sehingga terbentuk warna komplek biru. Masukkan kedalam kuvet. Ukur serapan pada panjang gelombang 749

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

Hitung % perolehan kembali menggunakan rumus :

$$\frac{C_{sa}-C_s}{C_a} \times 100\%$$

Dimana :

C_{sa} = Konsentrasi sampel dengan penambahan larutan standar asam galat

C_s = Konsentrasi sampel tanpa penambahan larutan standar asam galat

C_a = Konsentrasi asam galat yang ditambahkan

Pengukuran Daya Antioksidan Larutan Sampel dengan metode DPPH (Mosquera, 2007)

1. Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimum DPPH

Pipet sebanyak 4 mL larutan DPPH (0,035 mg/mL) yang baru dibuat, masukan kedalam botol gelap, tambahkan 2 mL campuran metanol : air suling (1 : 1), kocok hmogen lalu biarkan selama 30 menit. Masukan kedalam kuvet. Ukur serapan dengan Spektrofotometer UV-Visible pada panjang gelombang 400-800 nm.

2. Penentuan IC₅₀ Larutan Sampel

Dari masing-masing larutan sampel dibuat konsentrasi 0,2; 0,3; 0,4; 0,5; 0,6 mg/mL. Masing-masing dipipet sebanyak 2 mL, masukkan kedalam botol gelap, tambahkan 4 ml larutan DPPH 0,035 mg/mL, kocok homogen, biarkan selama 30 menit. Masukkan kedalam kuvet. Ukur serapan larutan dengan spektrofotometer UV-Visibel pada panjang gelombang 520 nm. Hitung % inhibisi masing-masingnya. Buat grafik antara konsentrasi larutan

sampel dan % inhibisi, sehingga diperoleh persamaan regresi linearnya. IC_{50} larutan sampel adalah konsentrasi larutan sampel yang akan memberikan inhibisi sebesar 50%, yang dapat dihitung dengan menggunakan persamaan regresi linear yang diperoleh.

3. Penentuan IC_{50} Larutan Asam Galat

Dari larutan induk asam galat 5 mg/mL dibuat konsentrasi 1; 2; 3; 4; 5 μ g/mL. Masing-masing dipipet sebanyak 2 mL, masukkan kedalam botol gelap, tambahkan 4 mL larutan DPPH 0,035 mg/mL, kocok homogen, biarkan selama 30 menit. Masukkan kedalam kuvet. Ukur serapan larutan dengan spektrofotometer UV-Visibel pada panjang gelombang 520 nm. Hitung % inhibisi masing-masingnya. Buat grafik antara konsentrasi larutan pembanding asam galat dan % inhibisi, sehingga diperoleh regresi linearnya.

IC_{50} asam galat adalah konsentrasi larutan pembanding asam galat yang akan memberikan inhibisi sebesar 50%, yang dapat dihitung dengan menggunakan persamaan regresi linear yang telah diperoleh.

Hitung % inhibisi menggunakan rumus :

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{A1 - (A2 - A3)}{A1} \times 100\%$$

A1 = Serapan larutan radikal DPPH 0,035 mg/mL ditambah metanol : air (1:1) pada gelombang maksimum.

A2 = Serapan larutan sampel ditambah larutan radikal DPPH 0,035 mg/mL pada panjang gelombang maksimum.

A3 = Serapan larutan sampel ditambah metanol : air (1:1) pada panjang gelombang maksimum.

Tabel I. Hasil Perolehan Rendemen Larutan Ekstrak Herba Meniran (*Phyllanthus niruri* L.)**Sampel Kering Angin**

No	Rendemen (g)	Rendemen (mg/g)
1	0,1744	174,4
2	0,1757	175,7
3	0,1762	176,2
Rata-Rata	0,1754	175,4
Standar Deviasi	0,00093	0,930
Koefisien Variasi	0,5302	0,5302

Sampel Kering Microwave

No	Rendemen (g)	Rendemen (mg/g)
1	0,1178	117,8
2	0,1187	118,7
3	0,1188	118,8
Rata-Rata	0,1184	118,4
Standar Deviasi	0,00052	0,520
Koefisien Variasi	0,4662	0,4662

Sampel Kering Oven 40 °C

No	Kadar Ekstraktif (g)	Kadar Ekstraktif (mg/g)
1	0,1424	142,4
2	0,1421	142,1
3	0,1422	142,2
Rata-Rata	0,1422	142,2
Standar Deviasi	0,00015	0,150
Koefisien Variasi	0,1054	0,1054

Tabel II. Hasil Pengukuran Konsentrasi Senyawa Fenolat dari Herba Meniran dengan Spektrofotometri UV-Visibel pada Panjang Gelombang 749 nm**Sampel Kering Angin**

Ekstrak	Absorban	Konsentrasi Senyawa Fenolat (µg/mL)	Kadar Senyawa Fenolat dalam Herba Meniran (mg/g)
1	0,219	26,1794	26,1794
2	0,221	26,6006	26,6006
3	0,220	26,3900	26,3900
Rata-Rata		26,3900	26,3900
Standar Deviasi		0,2106	0,2106
Koefisien Variasi		0,7980	0,7980

Sampel Kering Microwave

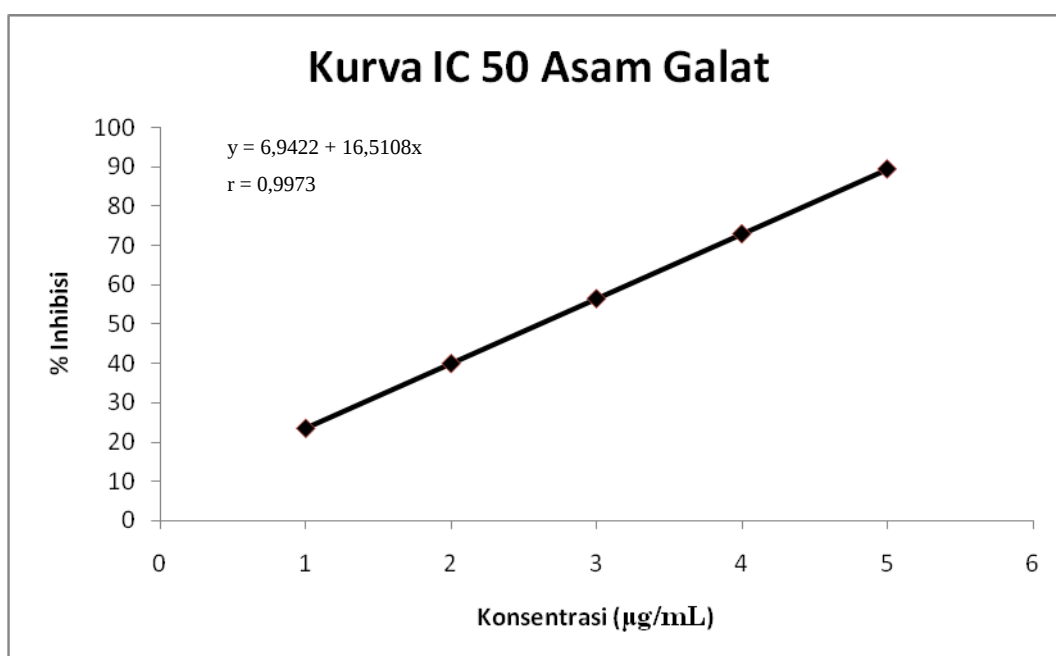
Ekstrak	Absorban	Konsentrasi Senyawa Fenolat (µg/mL)	Kadar Senyawa Fenolat dalam Herba Meniran (mg/g)
1	0,200	22,1777	22,1777
2	0,201	22,3883	22,3883
3	0,203	22,8096	22,8096
Rata-Rata		22,4585	22,4585
Standar Deviasi		0,3217	0,3217
Koefisien Variasi		1,4324	1,4324

Sampel Kering Oven 40 °C

Ekstrak	Absorban	Konsentrasi Senyawa Fenolat (µg/mL)	Kadar Senyawa Fenolat dalam Herba Meniran (mg/g)
1	0,201	22,3883	22,3883
2	0,203	22,8096	22,8096
3	0,205	23,2308	23,2308
Rata-Rata		22,8095	22,8095
Standar Deviasi		0,4212	0,4212
Koefisien Variasi		1,8465	1,8465

Tabel III. Data Hasil Pengukuran IC_{50} Larutan Pembanding Asam Galat

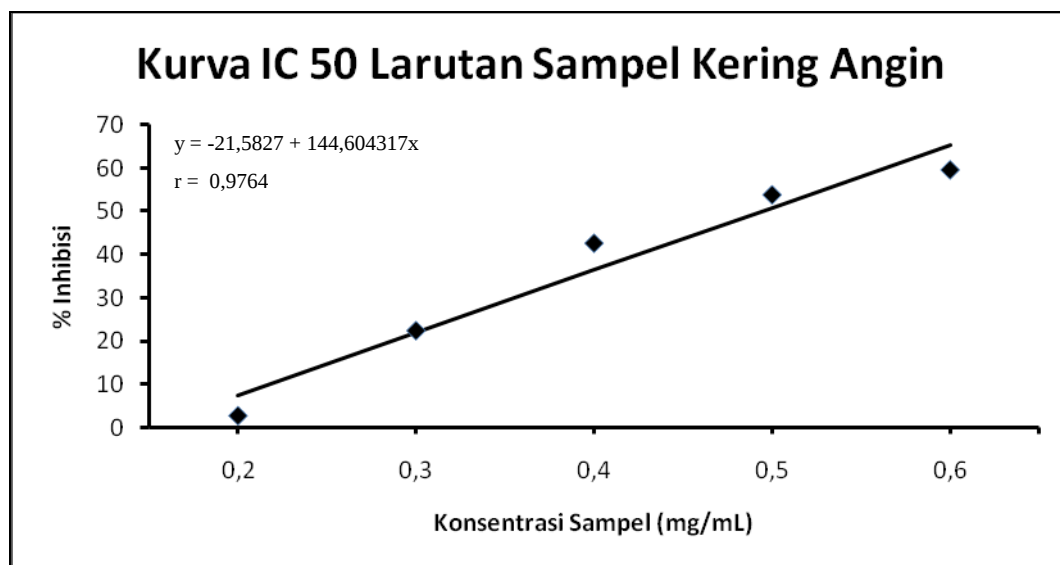
Larutan Pembanding	Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Absorban			% Inhibisi	IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)
		A1	A2	A3		
Asam Galat	1	0,556	0,439	0,005	21,942	2,608
	2		0,340	0,006	39,928	
	3		0,233	0,009	59,712	
	4		0,164	0,012	72,662	
	5		0,080	0,014	88,129	

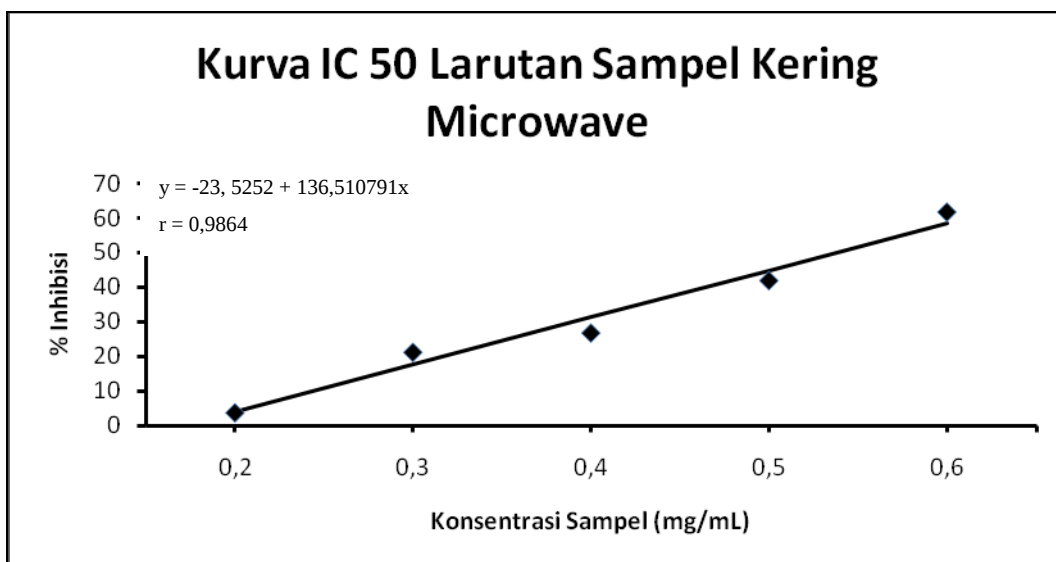


Gambar 1. Kurva IC_{50} Larutan Pembanding Asam Galat

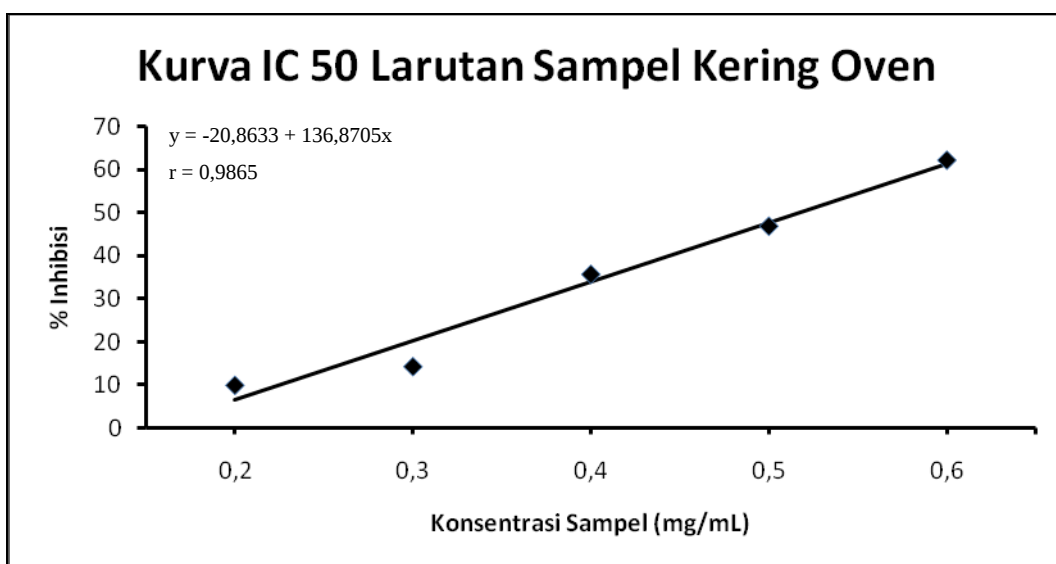
Tabel VI. Data Hasil Pengukuran IC₅₀ Larutan Sampel Herba Meniran

Larutan Sampel	Konsentrasi (mg/mL)	Absorban			% Inhibisi	IC ₅₀ (mg/mL)
		A1	A2	A3		
Kering Angin	0,2	0,556	0,543	0,003	2,88	0,49
	0,3		0,435	0,004	22,48	
	0,4		0,324	0,005	42,63	
	0,5		0,263	0,006	53,78	
	0,6		0,231	0,006	59,53	
Larutan Sampel	Konsentrasi (mg/mL)	Absorban			% Inhibisi	IC ₅₀ (mg/mL)
		A1	A2	A3		
Kering Microwave	0,2	0,556	0,536	0,001	3,78	0,53
	0,3		0,441	0,003	21,22	
	0,4		0,409	0,002	26,80	
	0,5		0,326	0,003	41,91	
	0,6		0,217	0,004	61,69	
Larutan Sampel	Konsentrasi (mg/mL)	Absorban			% Inhibisi	IC ₅₀ (µg/mL)
		A1	A2	A3		
Kering Oven 40 ⁰	0,2	0,556	0,502	0,002	10,07	0,51
	0,3		0,478	0,002	14,39	
	0,4		0,360	0,003	35,79	
	0,5		0,299	0,004	46,94	
	0,6		0,213	0,003	62,23	

Gambar 2. Kurva IC₅₀ Larutan Sampel Kering Angin



Gambar 3. Kurva IC₅₀ Larutan Sampel Kering Microwave



Gambar 4. Kurva IC₅₀ Larutan Sampel Kering Oven 40 °C

Pembahasan

Pemeriksaan kadar senyawa fenolat dengan menggunakan metoda Folin-Ciocalteu dimana metoda ini merupakan metoda yang spesifik dan sensitif dengan senyawa fenol dan reagen yang digunakan dalam jumlah sedikit. Reagen Folin-Ciocalteu ini akan membentuk larutan kompleks berwarna biru tua jika direaksikan dengan larutan yang mengandung senyawa fenolat dan

ditambahkan larutan natrium karbonat. Larutan kompleks berwarna biru tua inilah yang akan ditentukan absorbannya dengan alat spektrofotometer UV-Visibel pada panjang gelombang yang sesuai sehingga kadar senyawa fenolat larutan sampel dapat diketahui.

Pengukuran aktivitas antioksidan larutan sampel ditentukan dengan metoda DPPH. DPPH adalah radikal bebas yang diperdagangkan, stabil pada suhu kamar

dengan pemerian serbuk violet kehitaman, cepat teroksidasi oleh cahaya matahari dan udara serta mudah larut dalam etanol. Metoda ini dipilih karena mudah, cepat, peka dan hanya memerlukan sedikit sampel. Senyawa yang mempunyai aktivitas antioksidan akan bereaksi dengan radikal DPPH melalui mekanisme donasi atom hidrogen yang menyebabkan terjadinya perubahan warna DPPH dari ungu menjadi kuning. Pengurangan warna terjadi saat elektron sunyi menjadi berpasangan karena adanya serah terima elektron antara suatu senyawa antioksidan dengan radikal DPPH tersebut. Perubahan warna inilah yang akan diukur serapannya dengan menggunakan spektrofotometer UV-Visibel. Semakin rendah serapan maka semakin tinggi daya antioksidan dari larutan sampel

Dari uraian di atas dapat dilihat bahwa cara pengeringan sampel sangat berpengaruh terhadap perolehan kadar ekstrakatif, kadar senyawa fenolat, dan daya antioksidan sampel. Tujuan pengeringan adalah mengurangi kadar air sehingga bahan

tersebut tidak mudah ditumbuhi kapang dan jasad renik lainnya serta dapat menghentikan reaksi enzimatik yang dapat menguraikan lebih lanjut kandungan zat aktif.

Setelah penelitian dilakukan diketahui bahwa cara pengeringan yang menggunakan metode kering angin memperlihatkan kadar senyawa fenolat yang tinggi serta aktivitas antioksidan yang paling kuat. Ini menandakan bahwa herba meniran (*Phyllanthus niruri* L.) memiliki potensi yang bagus yang bisa dimanfaatkan sebagai salah satu sumber antioksidan alami untuk mencegah terjadinya radikal bebas.

Kesimpulan

Cara pengeringan sampel memberi pengaruh terhadap perolehan kadar ekstrakatif, kadar senyawa fenolat, dan daya antioksidan sampel.

Daftar Pustaka

- Bagalkotker., S. R. Sagineedu., M. S. Saad., J. Stanslas., 2006, Phytochemicals from *Phyllanthus niruri* L. and their Pharmacological Properties, Pharmaceutical Press., **58**(12), 1559-1570
- Hanani, E., A. Mun'im, dan R. Sekarini, 2005, Identifikasi Senyawa Antioksidan dalam *Spongy Callyspongia* sp dari Kepulauan Seribu, *Majalah Ilmu Kefarmasian.*, **2**(3), 127-133
- Keinanen, M. and R. J. Titto, 1996, "Effect of Sample Preparation Method on Birch (*Betula pendula* Roth) Leaf Phenolics", *J. Agric Food Chem.*, **44**, 2724-2727
- Mosquera, O. M., Y. M. Correa., D. C. Buitrago and N. Jaime, 2007, Antioxidant Activity of Twenty Five Plants from Colombian Biodeiversity, *Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro.*, **102**(5), 631-634
- Murugaiyah, V., 2008, "Phytochemical, Pharmacological and Pharmacokinetic Studies of *Phyllanthus niruri* Linn, Lignans As Potential Antihyperuricemic Agent", *Tesis S2, Universiti Sains Malaysia, Malaysia*,
- Prakash, A., 2001, Antioxidant Activity, *Medallion Labs.*, **19**(2), 26
- Praptiwi., D. Puspa. dan M. Harapini, 2006, Nilai Peroksida dan Aktivitas Anti Radikal Bebas DPPH (*1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl*) Ekstrak Metanol *Knema Laurina*, *Majalah Farmasi Indonesia.*, **17**(1), 32-36
- Pourmorad, F., S.J. Hosseini-mehr and N. Sgahabimajd, 2006, Antioxidant Activity, Phenol, and Flavonoid Contents of some Selected Iranian Medicinal Plants, *African Journal of Biotechnology*, **5**(11), 14-42