

PENENTUAN PENGARUH JENIS PELARUT EKSTRAKSI TERHADAP PEROLEHAN KADAR SENYAWA FENOLAT DAN DAYA ANTIOKSIDAN DARI HERBA MINIRAN (*Phyllanthus niruri* L.)

Zulharmitta¹, Derisa Erika², Harrizul Rivai¹

¹Fakultas Farmasi, Universitas Andalas

²Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi (STIFARM) Padang

Abstract

The influence of solvents on the gaining of phenolic compounds and antioxidant activity of meniran herbs (*Phyllanthus niruri* L.) have been evaluated. The meniran herbs were extracted with methanol-water, ethanol-water and acetone-water. Total phenolic content of these extracts were determined by using the Folin-Ciocalteu method and antioxidant activity of these extracts were determined by using DPPH method. The results showed that extraction with methanol-water, ethanol-water and acetone-water give extractives in ammount of 167.9, 152.8 and 135.7 mg/g, respectively. The total phenolic compound content of these extracts were 73.4584, 59.9798 and 48.9976 mg/g respectively. Where as the antioxidant activity (IC₅₀ value) of these extract were 0.3987, 0.4323 and 0.4495 mg/mL, respectively.

Keyword: Senyawa Fenolat, Antioksidan, *Phyllanthus niruri* L., Meniran

Pendahuluan

Perkembangan penggunaan obat-obatan tradisional khususnya dari tumbuh-tumbuhan untuk membantu meningkatkan derajat kesehatan masyarakat sudah cukup meluas. Salah satu sumber alam yang bisa dimanfaatkan untuk meningkatkan daya tahan tubuh adalah meniran (*Phyllanthus niruri* L.). Meniran telah teruji dan terbukti berperan sebagai antioksidan atau mampu meningkatkan sistem kekebalan tubuh (Kardiman dan Kusumo, 2004).

Antioksidan sangat penting peranannya dalam mencegah berbagai penyakit yang diakibatkan oleh reaksi oksidasi berlebihan didalam tubuh. Oleh karena itu akhir-akhir ini penggunaan senyawa antioksidan berkembang dengan pesat baik untuk makanan maupun pengobatan. Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menunda, memperlambat, dan mencegah proses oksidasi. (Arif, 2003).

Meniran 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 demam, imunostimulan, anemia mengobati batuk, influenza, antibakteri, karena meniran banyak mengandung senyawa kimia seperti flavonoid, lignan, terpen, benzenoid, alkaloid, vitamin C dan tanin. Kandungan flavonoid yang terdapat pada meniran menunjukkan aktivitas antioksidan (Bagalkotker, *et al.*, 2006; Murugaiyah, 2008).

Ekstraksi adalah suatu proses pemisahan dari bahan padat maupun cair dengan bantuan pelarut.

Pelarut yang digunakan harus dapat mengekstrak substansi yang diinginkan tanpa melarutkan material lainnya. Ekstraksi merupakan proses pemisahan suatu bahan dari campurannya, ekstraksi dapat dilakukan dengan berbagai cara. Ekstraksi menggunakan pelarut didasarkan pada kelarutan (Ansel, 1989).

Jenis pelarut dalam ekstraksi, dapat mempengaruhi perolehan kadar zat aktif dari tumbuhan. Maka dari itu pemakaian pelarut yang terbaik akan semakin mempertinggi optimalisasi dalam pengestraksi sampel. Penelitian ini menggunakan pelarut metanol, etanol, aseton, karena ketiga pelarut ini bersifat polar dan mudah larut dalam air.

Metanol adalah senyawa kimia dengan rumus kimia CH₃OH. Metanol merupakan bentuk alkohol paling sederhana. Pada keadaan atmosfer ia berbentuk cairan yang ringan, mudah menguap, tidak berwarna, mudah terbakar dan bau yang khas. Etanol disebut juga etil alkohol dengan rumus kimia C₂H₅OH, etanol adalah sejenis cairan yang mudah menguap, mudah terbakar, dan tak berwarna. Aseton disebut juga dimetil keton dengan rumus kimia CH₃COCH₃ adalah senyawa berbentuk cairan yang mudah terbakar.

Metode yang digunakan pada penetapan kadar senyawa fenolat adalah metode Folin - Ciocalteu, dengan memakai reagen Folin - Ciocalteu (Waterhouse, 1999). Sedangkan untuk pengujian daya antioksidan akan digunakan metode dengan pengukuran serapan radikal DPPH (1,1-diphenyl-2-picrilhydrazyl) (Okawa, *et al.*, 2001). Sebagai pembanding penetapan kadar fenolat dan daya antioksidan digunakan asam galat. Alat yang

digunakan untuk mengukur perolehan kadar senyawa fenolat dan daya antioksidan ini adalah spektrofotometer UV-Visible (Molyneux., 2004).

Oleh karena pentingnya tanaman meniran dalam pengobatan, maka mutu keamanan dan pemanfaatnya harus ditingkatkan melalui penelitian dan pengembangan. Salah satu faktor yang mempengaruhi mutu adalah pengaruh jenis pelarut dalam kegiatan ekstraksi.

Metoda Penelitian

Alat

Seperangkat alat rotary evaporator (IKA), desikator, oven (Mammert) dan spektrofotometer UV-Visible (Shimadzu).

Bahan

Herba meniran (*Phyllanthus niruri* L), natrium karbonat p.a (Merck®), asam galat, etanol p.a (Merck®), reagen fenol Folin – Ciocalteu, (Merck), DPPH (1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl) (Sigma), metanol p.a (Merck®), dan aseton p.a (Merck®).

Prosedur Penelitian

Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel dilakukan di daerah Komplek Dokter, Kelurahan IX Korong, Kecamatan Lubuak Sikarah, Solok, Sumatera Barat. Sampel yang diambil adalah herba meniran segar. Sampel kemudian dicuci dengan air bersih, ditiriskan, dipotong menjadi bagian yang kecil dan dikering anginkan hingga kering. Setelah sampel kering dilakukan uji kadar air sampai didapat kadar air tersebut <10%.

Determinasi

Determinasi sampel telah dilakukan di Herbarium Andalas (ANDA), Laboratorium Taksonomi Tumbuhan, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Andalas, Padang, Sumatera Barat.

Pembuatan Reagen

- Larutan Natrium Karbonat 1 M
10,6 gram natrium karbonat ditimbang kemudian larutkan dengan air suling dalam labu ukur 100 mL hingga tanda batas.
- Larutan Induk Asam Galat (5 mg/mL)
0,125 gram asam galat ditimbang, dimasukkan kedalam labu ukur 25 mL, tambahkan 2,5 mL etanol 96% lalu tambahkan air suling hingga tanda batas. kemudian dihomogenkan. Hingga didapatkan larutan asam galat dengan konsentrasi 5 mg/mL (Waterhouse, 1999).
- Pembuatan Pereaksi DPPH (1,1 –difenil-2-pikrihidrazil) 0,035 mg/mL
10 mg DPPH ditimbang lalu dilarutkan dengan metanol dalam labu ukur 100 mL sampai tanda

batas kemudian dipipet 35 mL masukan dalam labu ukur 100 mL dan tambahkan metanol sampai tanda batas (Mosquera *et al.*, 2007).

Perlakuan Sampel

Sampel kering dibagi menjadi 3 kelompok yang masing-masingnya ditimbang sebanyak 5 gram, kemudian diekstraksi dengan cara maserasi, dengan menggunakan pelarut sebagai berikut :

- Kelompok 1 dengan etanol + Air 50 : 50 sebanyak 50 mL
- Kelompok 2 dengan methanol + Air 50 : 50 sebanyak 50 mL
- Kelompok 3 dengan aseton + Air 50 : 50 sebanyak 50 mL

Sampel dimaserasi selama 1 hari dengan sekali kali diaduk. Lalu saring dengan kertas saring whatman. Ampasnya dimaserasi sebanyak dua kali dengan pelarut baru sampai diperoleh filtrat yang jernih. Masing-masing ekstrak dipekatkan dengan menggunakan rotary evaporator pada suhu 40°C sampai kental. Sebelum dilakukan analisis, masing – masing ekstrak dilarutkan dalam campuran metanol : aquadest (1:1) dalam labu ukur 50 mL. kemudian ditentukan kadar senyawa fenolat total dan aktifitas antioksidannya dan kadar zat tersarinya (Keinanen dan Tito, 1996).

Penentuan Rendemen Ekstrak Meniran

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 ± 30 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

- Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimum Asam Galat-Folin Ciocalteu
Dipipet larutan induk asam galat (5 mg/mL) sebanyak 1 mL masukkan kedalam labu ukur 50 mL lalu diencerkan dengan metanol: aquadest (1 : 1) sampai tanda batas. Kemudian dipipet 0,5 mL dan masukkan 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-VIS.
- 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 aquadest 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 1:1) dan 4 mL Natrium Karbonat 1M, kocok homogen. Diamkan selama 15 menit, masukkan kedalam kuvet. Ukur serapan pada panjang gelombang maksimum dengan spektrofotometer UV-Visibel dan buat kurva kalibrasi sehingga persamaan regresi linearnya dapat dihitung.

- c. Penentuan Kadar Senyawa Fenolat dalam Larutan Sampel
Pipet 0,5 mL larutan sampel (1 mg/mL), masukan kedalam vial kemudian tambahkan 5 mL reagen Folin-Ciocalteu (diencerkan 1 : 10 dengan aquadest) 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 740 nm dengan Spektrofotometer UV-Visible, lakukan tiga kali perulangan. Tentukan kadar senyawa fenolat dengan kurva kalibrasi.
- d. 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 aquadest 1:10) dan 4 mL Natrium Karbonat 1M, kocok homogen. Diamkan selama 15 menit, sehingga terbentuk warna kompleks biru. Masukkan kedalam kuvet. Ukur serapan pada panjang gelombang 740 nm dengan Spektrofotometer UV-Visibel. Hitung konsentrasi larutan menggunakan persamaan regresi asam galat.
Hitung % perolehan kembali menggunakan rumus :

$$\% \text{ perolehan kembali} = \frac{C_{sa} - C_s}{C_a} \times 100\%$$

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

- a. 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 : aquadest (1 : 1), kocok homogen lalu biarkan selama 30 menit. Masukan kedalam kuvet. Ukur serapan dengan Spektrofotometer UV-Visible pada panjang gelombang 400-800 nm (Mosquera, *et al.*, 2007).
- b. Penentuan IC_{50} Larutan Asam Galat
Dari larutan induk asam galat 5 mg/mL dibuat konsentrasi 1; 2; 3; 4; 5 µg/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-ST pada panjang gelombang maksimum 519 nm. Hitung % inhibisi masing-masingnya. Buat grafik antara konsentrasi larutan pembanding asam galat dan % inhibisi, sehingga diperoleh regresi linearnya.
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.
- c. Penentuan IC_{50} 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, dimasukkan 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 maksimum. Hitung % masing-masing. Buat grafik antara konsentrasi larutan sampel dan % inhibisi sehingga diperoleh persamaan regresi linernya.

IC₅₀ larutan sampel adalah konsentrasi larutan sampel yang akan memberikan inhibisi sebesar 50%, yang dapat dihitung dengan menggunakan persamaan regresi linear yang diperoleh.

Evaluasi Data Hasil Penelitian

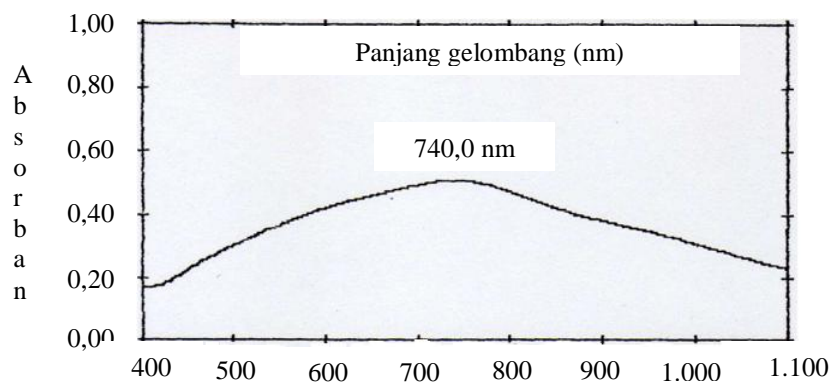
Data hasil penelitian pengaruh jumlah pelarut etanol – air, aseton - air dan metanol - air sebagai pelarut ekstraksi terhadap perolehan senyawa fenolat total dan daya antioksidan akan diuji secara statistik menggunakan Analisa Variansi (ANOVA) satu arah.

Hasil

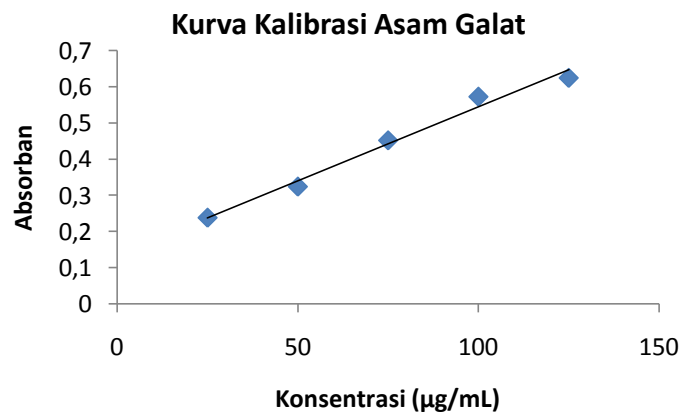
Tabel 1. Hasil Perolehan Kadar Rendemen Larutan Ekstrak Sampel (*Phyllanthus niruri* L.)

No	Perbandingan Pelarut	Berat ekstrak (mg/g)	Rata-rata	SD	KV (%)
1	Metanol : air (1 : 1)	169,5	167,9	0,275	1,647
		165,1			
		169,3			
2	Etanol : air (1 : 1)	150,1	152,8	4,65	3,059
		150,4			
		158,1			
3	Aseton : air (1 : 1)	137,3	135,7	2,82	2
		133,1			
		136,8			

Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimum Larutan Asam Galat + reagen Folin Ciocalteu



Gambar 1. Spektrum serapan larutan asam galat + reagen Folin Ciocalteu



$$y = 0,1355 + 0,004092x$$

$$r = 0,9923$$

Gambar 2. Kurva Kalibrasi Larutan Asam Galat + Folin-Ciocalteu

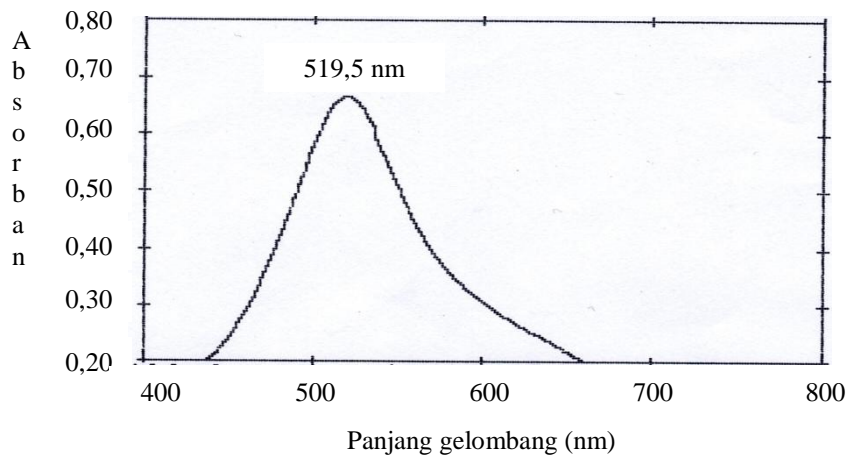
Tabel II. Hasil Pengukuran Konsentrasi Senyawa Fenolat dari Herba Meniran dengan Spektrofotometri UV-Visibel pada Panjang Gelombang 740 nm

Pelarut	Absorban	Kadar Fenolat Dalam Larutan ($\mu\text{g/mL}$)	Kadar Fenolat Dalam Sampel (mg/g)
Metanol : Air (1 : 1)	0,438	73,9247	73,9247
	0,434	72,9472	72,9472
	0,432	72,4584	72,4584
	Rata - rata	73,4584	73,4584
	Standar Deviasi	0,7466	0,7466
	Koefisien Variasi	1,0211	1,0211
Etanol : Air (1 : 1)	0,380	59,7050	59,7050
	0,381	59,9951	59,9951
	0,382	60,2394	60,2394
	Rata - rata	59,9798	59,9798
	Standar Deviasi	0,2675	0,2675
	Koefisien Variasi	0,4459	0,4459
Aseton : Air (1 : 1)	0,339	49,7311	49,7311
	0,335	48,7539	48,7539
	0,334	48,5092	48,5092
	Rata - rata	48,9976	48,9976
	Standar Deviasi	0,1747	0,1747
	Koefisien Variasi	0,3560	0,3560

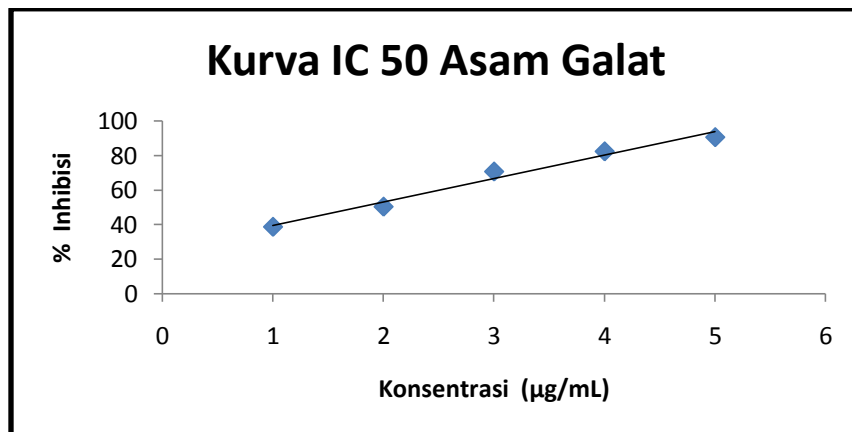
Tabel III. Hasil Pengukuran % Perolehan Kembali Larutan Standar Asam Galat

Pelarut	Absorban	Konsentrasi $\mu\text{g/mL}$	% Perolehan Kembali
Metanol : Air	0,536	97,8739	95,7968
	0,532	96,8963	95,7967
	0,525	95,1857	90,9093
	Rata - rata	96,6519	94,1675
	Standar Deviasi	1,3606	2,8216
	Koefisien Variasi	1,4077	2,9964
Etanol : Air	0,479	83,9442	96,9568
	0,484	85,1661	99,7068
	0,482	84,6774	98,4642
	Rata - rata	84,6774	98,4642
	Standar Deviasi	0,1430	0,1430
	Koefisien Variasi	0,1691	0,1691
Aseton : Air	0,442	74,9022	100,6
	0,438	73,9247	100,6
	0,429	71,7253	92,8644
	Rata - rata	73,5174	98,0214
	Standar Deviasi	1,9651	4,4661
	Koefisien Variasi	2,6730	4,5563

Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Serapan Larutan DPPH 0,035 mg/mL



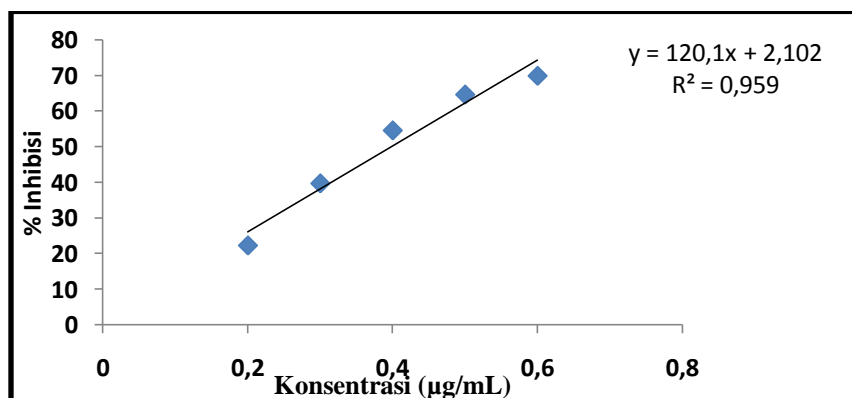
Gambar 3. Spektrum visibel serapan larutan DPPH 0,035 mg/mL



$$y = 13,63x + 25,64$$

$$r = 0,979$$

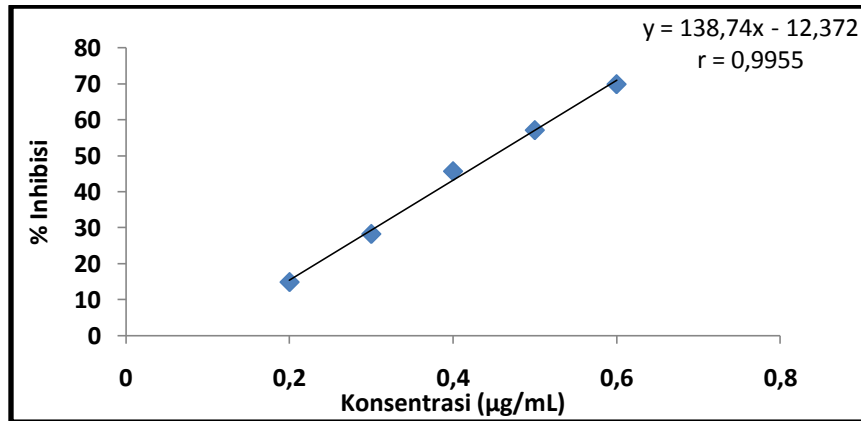
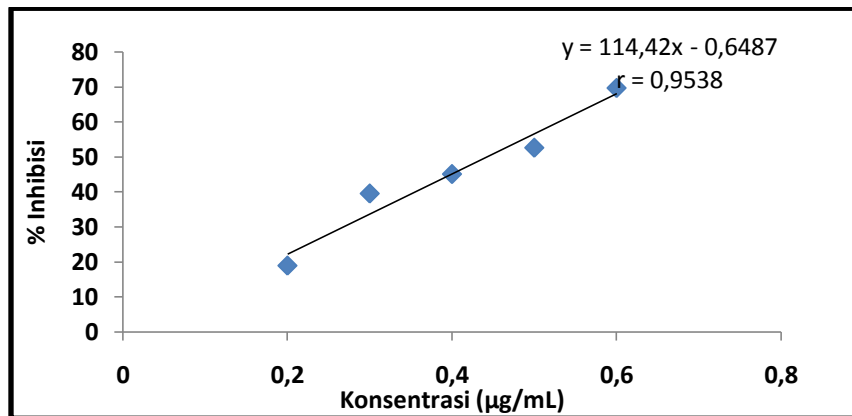
Gambar 4. Kurva IC₅₀ Larutan Pembanding Asam Galat



$$y = 120,1x + 2,102$$

$$R^2 = 0,959$$

Gambar 5. Kurva IC₅₀ Larutan Sampel Pelarut Metanol : Air

Gambar 6. Kurva IC₅₀ Larutan Sampel Pelarut Aseton : AirGambar 7. Kurva IC₅₀ Larutan Sampel Pelarut Etanol : Air

Pembahasan

Dari penelitian yang telah dilakukan maka diperoleh hasil kadar ekstrak zat tersari (rendemen) dari masing - masing sampel. Sampel yang menggunakan pelarut metanol : air 167,9 mg/g; etanol : air 152,8 mg/g; dan aseton : air 135,7 mg/g (Tabel I). Dari data tersebut kadar rendemen yang tertinggi adalah jenis pelarut metanol berarti jenis pelarut metanol lebih baik untuk herba meniran. Untuk melihat seberapa besar pengaruh jenis pelarut terhadap kadar rendemen sampel, maka dilakukan pengolahan data secara statistik menggunakan Anova satu arah. Sebelum dilakukan uji Anova satu arah perlu dilakukan uji homogenitas variansi, untuk melihat apakah berbeda nyata atau tidak berbeda nyata. Hasil signifikan yang diperoleh 0,184 berarti $> 0,05$ maka H_0 diterima dan H_a ditolak. Hal ini menyatakan tidak ada perbedaan signifikan antara variansi, oleh karena itu dapat dilakukan uji Anova satu arah.

Setelah dilakukan analisa anova satu arah terlihat hasil signifikan yang diperoleh yaitu 0,000; berarti $< 0,05$ maka H_0 ditolak dan H_a diterima.

Hal ini menunjukkan bahwa ada perbedaan signifikan antara ketiga jenis pelarut tersebut maka dari itu harus dilakukan uji lanjut dengan uji duncan. Dari hasil analisa ini terlihat bahwa jenis pelarut metanol : air, etanol : air, aseton : air berbeda nyata.

Pemeriksaan kadar senyawa fenolat dengan menggunakan metode folin – Ciocalteu dimana metode ini merupakan metode 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 ini lah yang akan ditentukan absorbannya dengan alat spektrofotometer UV-Visible pada panjang gelombang yang sesuai sehingga kadar senyawa fenolat larutan sampel dapat diketahui (Waterhouse, 1999).

Pada penentuan kadar senyawa fenolat ini digunakan asam galat sebagai larutan standar. Asam galat merupakan asam organik golongan

tanin yang memiliki sifat lebih stabil dan murni. Serapan maksimum asam galat didapat pada panjang gelombang 740 nm.

Setelah didapat panjang gelombang maksimum kemudian diukur absorbansi untuk penentuan kurva kalibrasi asam galat pada konsentrasi 25; 50; 75; 100; 125; µg/mL dari pengukuran ini didapat persamaan regresi $y = 0,1355 + 0,004092x$.

Kadar senyawa fenolat sampel yang di peroleh adalah pada sampel yang menggunakan pelarut metanol : air (1:1); 73,1101 mg/g, etanol : air (1:1); 59,9798 mg/g aseton : air (1:1); 48,9976 mg/g (Tabel II). Untuk melihat seberapa besar pengaruh jenis pelarut terhadap kadar senyawa fenolat sampel maka dilakukan pengolahan data secara statistik menggunakan metode Anova satu arah. Uji Anova satu arah pada uji homogenitas variansi menunjukkan 0,255 ($>0,05$) berarti H_0 ditolak dan H_a diterima, yang berarti perolehan kadar senyawa fenolat dari tiga macam perlakuan sampel berbeda nyata.

Pada penentuan persen perolehan kembali dilakukan dengan mengukur absorbansi larutan sampel dengan penambahan larutan standar asam galat dan absorbansi larutan sampel tanpa penambahan asam galat. Sehingga dapat dihitung % perolehan kembali asam galat dari masing-masing jenis pelarut metanol : air, 94,1675; etanol : air, 98,4642; aseton : air, 98,0214. Hasil ini menunjukkan bahwa dengan menggunakan alat spektrofotometer UV-Visible baik karena persen perolehan kembali besar dari 85 %.

Pengukuran aktivitas antioksidan larutan sampel ditentukan dengan metode DPPH. DPPH adalah radikal bebas yang diperdagangkan, stabil pada suhu kamar dengan pemberian serbuk violet kehitaman, cepat teroksidasi oleh cahaya matahari dan udara serta mudah larut dalam etanol. Metode 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. Pengukuran warna terjadi saat elektron sunyi menjadi berpasangan karena adanya serah terima elektron antara senyawa antioksidan dengan radikal DPPH tersebut. Perubahan warna inilah yang akan diukur dengan menggunakan spektrofotometer UV-Visible. Semakin rendah serapan maka semakin tinggi daya antioksidan dari larutan sampel. Pada penentuan daya antioksidan digunakan DPPH dengan konsentrasi 0,035 mg/mL. Pada konsentrasi ini diperoleh panjang gelombang maksimum 519 nm dengan absorbansi 0,666. Absorbansi ini digunakan sebagai kontrol (Mosquera *et al*, 2007).

Daya antioksidan dapat ditentukan dari nilai IC₅₀ yaitu konsentrasi senyawa antioksidan yang memberikan inhibisi 50% yang berarti bahwa pada konsentrasi tersebut antioksidan dapat menghambat radikal bebas 50%. Sebagai pembanding digunakan larutan asam galat dengan konsentrasi 1, 2, 3, 4, dan 5 µg/mL, dari absorbansi yang didapat maka dapat dihitung persen inhibisi DPPH, sehingga diperoleh persamaan regresi $y = 25,64565 + 13,63363x$. Dari persamaan ini dapat dihitung nilai IC₅₀ asam galat yaitu 1,7863 µg/mL.

Daya antioksidan larutan sampel diukur pada konsentrasi 0,2; 0,3; 0,4; 0,5 dan 0,6 mg/mL. Didapat IC₅₀ dari masing-masing sampel, metanol : air (1 : 1) 0,3987, aseton : air (1 : 1) 0,4495 dan etanol : air (1 : 1) 0,4323mg/mL (Lampiran 1, Tabel VI, Gambar 6) Dapat dilihat bahwa IC₅₀ yang paling rendah diperoleh dari pelarut metanol : air yang berarti bahwa daya antioksidan dari metoda ini adalah yang paling baik.

Daya antioksidan larutan sampel diukur pada konsentrasi 0,2; 0,3; 0,4; 0,5 dan 0,6 mg/mL. Didapat IC₅₀ dari masing-masing sampel, metanol : air (1 : 1) 0,3987, aseton : air (1 : 1) 0,4495 dan etanol : air (1 : 1) 0,4323mg/mL (Lampiran 1, Tabel VI, Gambar 6) Dapat dilihat bahwa IC₅₀ yang paling rendah diperoleh dari pelarut metanol : air yang berarti bahwa daya antioksidan dari metoda ini adalah yang paling baik.

Dari penelitian ini dilihat bahwa jenis pelarut ekstraksi pada larutan sampel sangat berpengaruh terhadap perolehan kadar ekstrak, kadar fenolat dan aktifitas antioksidan pada larutan sampel (Ansel, 1989). Tujuan dari perbandingan jenis pelarut ini adalah untuk mengetahui jenis pelarut mana yang paling bagus untuk pengekstraksian pada larutan sampel untuk memperoleh kadar senyawa fenolat dan aktifitas antioksidan dari larutan sampel, agar zat aktif dapat diekstrak secara sempurna. Dari perbandingan jenis pelarut ekstraksi tersebut diperoleh jenis pelarut metanol : air (1:1) memberikan kadar senyawa fenolat yang tinggi dan aktifitas antioksidan yang paling kuat. Hal ini disebabkan karena jenis pelarut metanol : air (1:1) merupakan pelarut yang paling bersifat polar dari jenis pelarut etanol : air (1:1) dan aseton : air (1:1). Dapat dilihat juga bahwa semakin tinggi kadar senyawa fenolat sampel maka akan semakin kuat pula aktifitas antioksidan sampel tersebut.

Kesimpulan

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

- 1) Kadar ekstrak rendemen yang paling tinggi diperoleh dari jenis pelarut metanol : air (1:1) yaitu 167,9 mg/g.
- 2) Kadar senyawa fenolat yang paling tinggi diperoleh dari jenis pelarut metanol : air (1:1) yaitu 73,4584 mg/g.
- 3) Daya antioksidan yang paling kuat dari berbagai jenis pelarut adalah pelarut metanol : air yang paling baik, dilihat dari IC50 yang diperoleh yaitu 0,3987 mg/mL.

Daftar Pustaka

- Ansel, H.C., 1989, Pengantar Bentuk Sediaan farmasi, Penerjemah : Farida Ibrahim, Universitas Indonesia Press, Jakarta.
- Arif, S., 2003, Radikal Bebas, Bagian Ilmu Kesehatan Anak FK UNAIR., Surabaya.
- 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.
- Kardiman, M.A dan Kusumo F.R., 2004, Meniran Penambah Daya Tahan Tubuh Alami, Agromedia Pustaka, Jakarta.
- Keinanen, M. and R. J. Titto, 1996, Effect of Sample Preparation Method on Birch (*Betula Pendulata* Roth) Leaf Phenolics, *J. Agric Food Chem.*, 44, 2724-2727.
- Okawa, M., J. Kinjo., T. Nohara., M. Ono, 2001, DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl) Radical Scavenging Activity of Flavonoid Obtained from Some Medical Plants, *Biol Pharm Bull.*, 24(10), 1202-1205
- Molyneux, P., 2004 "The Use of Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating Antioxidant Activity" *J. Sci. Technol.*, 26(2), 211-219.
- Mosquera, O. M., Y. M. Correa., D. C. Buitrago and N. Jaime, 2007, Antioxidant Activity of Twenty Five Plants from Colombian Biodeirvesity, *Inst Oswaldo Cruz, Rio de janeiro.*, 102(5), 631-634
- Murugaiyah, V., 2008, "Phytochemical, Pharmacological and Pharmacokinetic Stuches of *Phyllanthus niruri* Linn, Lignans As Potential Antihyperuricemic Agent", *Tesis S2*, Universiti Sains Malaysia, Malaysia.
- Waterhouse, A., 1999, "Folin Ciocalteau Micro Method for Total Phenol in Wine", *American Journal of Enology and Viticultur.*, 28, 1-3