

PENENTUAN KADAR SENYAWA FENOLAT DAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN PADA BUAH TERUNG BELANDA (*Cyphomandra betacea* (Cav.) Sendtn) SECARA SPEKTROFOTOMETRI VISIBEL

Fithriani Armin¹, Yuli Yani Dewi², Mahyuddin¹

¹Fakultas Farmasi, Universitas Andalas (UNAND) Padang

²Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi (STIFARM) Padang

Abstract

Levels Determination of phenolic compounds and antioxidant activity assay of eggplant belanda fruit (*Cyphomandra betacea* (Cav.) Sendtn) with visible spektrofotometri has been done. Determination of phenolic compounds performed by the method of Folin ciocalteu, while DPPH is used as an antioxidant. The antioxidant activity is determined by its IC₅₀ value. In this treatment gallic acid used as a comparison. The results showed that the levels of phenolic compounds from the sample extract solution is 0.288845 mg / g; 0.29678 mg / g and 0.28964 mg / g respectively. The antioxidant activity determined by IC50 values, where the value of its IC50 was 240.0811 µg / mL; 204.5010 µg / mL; 196.8531 µg / mL.

Keywords : antioxidant activity, phenolic content, *Cyphomandra betacea* (Cav.) Sendtn fruit.

Pendahuluan

Penelitian antioksidan dari tanaman banyak menarik perhatian karena antioksidan membantu melindungi tubuh terhadap kerusakan yang disebabkan oleh radikal bebas. Radikal bebas adalah atom atau molekul yang tidak stabil dan sangat reaktif karena mengandung satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada orbital terluarnya. Untuk mencapai kestabilan atom atau molekul, radikal bebas akan bereaksi dengan molekul disekitarnya untuk memperoleh pasangan elektron. Reaksi ini akan berlangsung terus menerus dalam tubuh dan bila tidak dihentikan akan menimbulkan berbagai penyakit seperti kanker, jantung, penuaan dini, serta penyakit degeneratif lainnya. Oleh karena itu, tubuh memerlukan suatu substansi yang penting yaitu antioksidan yang mampu menangkap radikal bebas tersebut sehingga tidak dapat menginduksi suatu penyakit (Kikuzaki, *et al.*, 2002).

Antoksidan merupakan senyawa penting dalam menjaga kesehatan tubuh karena berfungsi sebagai penangkap radikal bebas. Antioksidan adalah senyawa yang dapat menunda, memperlambat dan mencegah proses oksidasi (Harnani, *et al.*, 2005). Mengonsumsi antioksidan dalam jumlah memadai dilaporkan dapat mencegah berbagai penyakit, seperti kardiovaskular, kanker, osteoporosis (Astawan, M., 2007).

Selain diproduksi sendiri oleh tubuh antioksidan dapat diperoleh dari makanan dan suplemen. Kebanyakan senyawa antioksidan yang diisolasi

berasal dari alam seperti daun, bunga, buah-buahan, biji-bijian dan lain-lain, serta beberapa contoh antioksidan yang terdapat dalam tanaman seperti vitamin C, vitamin E, beta-karoten, likopen, serta senyawa polifenol yang berasal dari tumbuhan tinggi (Kumalaningsih, 2007).

Seperti kita ketahui di Indonesia yang beriklim tropis menyebabkan tanah subur sehingga banyak jenis tumbuhan yang dapat tumbuh. Di antaranya berbagai jenis tumbuhan yang memiliki khasiat sebagai obat yang juga merupakan sumber antioksidan alami, salah satunya buah terung belanda (*Cyphomandra betacea* (Cav.) Sendtn), kaya akan vitamin A dan bagus untuk kesehatan mata, serta vitamin C yang dapat mengobati sariawan, panas dalam, dan meningkatkan daya tahan tubuh, seratnya yang bermanfaat untuk mencegah kanker, sembelit/konstipasi. Beberapa masyarakat mengatakan buah terung belanda ini bisa digunakan sebagai obat penambah darah (Kumalaningsih, 2006).

Buah terung belanda masih belum banyak dibudidayakan secara besar-besaran, kebanyakan hanya di tanah pekarangan rumah atau sebagai tanaman naungan. Terung belanda merupakan tanaman jenis terung-terungan dari famili Solanaceae. Terung belanda merupakan tanaman yang bernilai kormesial sehingga perlu dikembangkan, baik kualitas maupun kuantitasnya. Produksi terung belanda di Indonesia banyak terdapat di daerah dataran tinggi yang memiliki kondisi cuaca yang

cocok untuk pertumbuhan buah terung belanda (Kumalaningsih, 2006).

Buah terung belanda umumnya banyak dimanfaatkan sebagai buah segar untuk dimakan, namun ada juga buahnya yang dimanfaatkan untuk bumbu masak, sayuran, dan produk olahan lainnya. Kulit buah terung belanda mempunyai rasa pahit, sehingga perlu dikupas sebelum dikonsumsi. Saat ini banyak dijual dan digemari sebagai minuman yang disajikan sebagai *juice* maupun dalam produk olahan seperti sirup, selai (Morton, 1987).

METODOLOGI PENELITIAN

Alat

Alat - alat yang digunakan adalah blender, kertas saring Whatman No.1, cawan penguap, timbangan analitik (Shimadzu), labu ukur, plat tetes, pipet mikro, pipet ukur, spatel, aluminium foil, lemari pendingin, vial gelap, botol gelap, beker glass, gelas ukur, corong, pipet tetes, erlenmeyer, kaca arloji, tabung reaksi, tissue, bola hisap, *rotary evaporator* (IKA Basic®), dan seperangkat alat spektrofotometer UV-Visibel Mini 1240 (Shimadzu).

Bahan

Bahan yang digunakan adalah buah terung belanda, aquadest, Metanol p.a (Merck), asam galat p.a.(Sigma®), etanol 96% (Merck®), Folin-Ciocalteu (Merck®), Natrium karbonat p.a (Merck), 1,1 difenil -2- pikril hidrazil (DPPH) (Sigma®).

Prosedur Penelitian

Pengambilan Sampel

Sampel yang digunakan adalah buah terung belanda yang matang, diambil didaerah Desa Galagah, kec. Lembah Gumanti, Alahan Panjang, Kab. Solok Selatan Sumatera Barat secara acak sebanyak 250 gram.

Pemeriksaan Metabolit Sekunder Dari Ekstrak Buah Terung Belanda.

Pemeriksaan Alkaloid (Kaur & Arora, 2009).

Sebanyak 0,2 g ekstrak dididihkan dengan 5 mL HCl 2 % pada tangas uap. Campuran itu disaring dan 1 mL filtrat dimasukkan masing-masing dalam 3 buah tabung reaksi. Masing-masing filtrat ditambahkan dengan 2 tetes pereaksi berikut:

- a. Pereaksi Dragendroff : Endapan warna merah-jingga menunjukkan adanya alkaloid.

- b. Pereaksi Meyer : Endapan berwarna putih krim menunjukkan adanya alkaloid.

- c. Pereaksi Wagner : Endapan berwarna coklat-kemerahan menunjukkan adanya alkaloid.

1. Pemeriksaan Flavonoid (Pradhan, et al., 2010).

Sebanyak 0,2 g ekstrak dipanaskan dengan 10 mL etil asetat dalam air mendidih selama 3 menit. Campuran itu disaring dan filtratnya digunakan untuk uji berikut :

- a. Uji Shinoda : Ekstrak alkohol ditambah dengan logam magnesium dan HCL pekat. Timbulnya warna merah terang menunjukkan adanya flavonon, warna merah jingga menunjukkan adanya flavonol.

- b. Uji Natrium Hidroksida : Ekstrak direaksikan dengan larutan NaOH. Terbentuknya warna kuning menunjukkan adanya flavon.

- c. Uji Asam Sulfat : Ekstrak ditambah dengan H₂SO₄ pekat. Terbentuknya warna kuning atau jingga menunjukkan adanya flavon.

2. Pemeriksaan Saponin (Evans, 2002).

Masukkan 0,5 g ekstrak masukkan dalam tabung reaksi tambahkan 10 mL air panas, dinginkan dan kemudian dikocok kuat-kuat selama 10 detik terbentuk busa atau buih yang stabil selama tidak kurang 10 menit setinggi 1 cm sampai 10 cm.

3. Pemeriksaan Terpenoid dan Steroid (Taur, et al., 2010).

Sebanyak 9 mL etanol ditambah pada 1 g ekstrak dan direfluks selama beberapa menit dan saring, filtratnya dipekatkan sampai 2,5 mL dalam tangas air mendidih. Sebanyak 5 mL air suling ditambahkan pada larutan pekat itu, diamkan selama 1 jam dan kemudian disaring. Filtratnya disaring dengan 2,5 mL kloroform dengan menggunakan corong pisah, sari kloroform itu digunakan untuk uji berikut :

- 1) Untuk uji Salkowski untuk steroid : Masukkan beberapa tetes ekstrak ditambah 0,5 mL kloroform dalam tabung reaksi ditambahkan dengan hati-hati dengan 1 mL asam sulfat pekat sehingga terbentuk lapisan bawah. Timbulnya warna merah kebiruan sampai warna merah cherry dalam lapisan kloroform dan fluoresensi hijau pada lapisan asam menunjukkan adanya senyawa steroid.

- 2) Uji Terpenoid : Sebanyak 0,5 mL sari kloroform diatas, diuapkan sampai kering pada tangas air dan dipanaskan dengan 3 mL asam sulfat pekat

selama 10 menit pada tangas air. Timbulnya warna abu-abu menunjukkan adanya terpenoid.

4. Uji Untuk Tanin (Pradhan, *et al.*, 2010).

Sebanyak 2 g ekstrak dididihkan dengan 5 mL etanol 45% selama 15 menit. Campuran itu didinginkan dan disaring. Filtratnya digunakan untuk uji berikut :

- a. Uji Timbal Asetat : Pada 1 mL filtrat ditambahkan dengan larutan timbal asetat, terbentuk endapan putih menunjukkan adanya tanin.
- b. Uji Ferri Klorida : Pada 1 mL ekstrak ditambahkan dengan larutan ferri klorida menghasilkan endapan berwarna biru hitam.

Pembuatan Ekstraksi Sampel

Diambil buah terung belanda segar, dicuci dengan aquadest kemudian dipotong-potong. Diblender selama 3 menit, lalu ditimbang sebanyak 50 g, masukkan kedalam botol gelap dan dimaserasi dengan 100 mL etanol 96%, tutup dan biarkan selama 5 hari terlindung dari cahaya sambil sesekali diaduk. Kemudian saring dengan kertas saring Whatman No.1, diperas, cuci ampas dengan etanol 96% secukupnya sampai diperoleh 100 bagian, lalu pindahkan kedalam botol gelap tertutup, biarkan ditempat sejuk, terlindung dari cahaya selama 2 hari, lalu disaring. Kemudian filtrat dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 40°C sampai kental. Sebelum dianalisis terlebih dahulu ekstrak kental tadi dilarutkan dengan campuran aquadest : metanol (1:1) dalam labu ukur 100 mL sampai tanda batas sehingga didapatkan konsentrasi 500 mg/mL yang dihitung dari berat awal sampel (Depkes RI, 2000).

Pembuatan Reagen

- a. Larutan Induk Asam Galat (5 mg/mL) (Waterhouse, 1999).
Ditimbang 0,1250 g asam galat dimasukkan kedalam labu ukur 25 mL, ditambahkan 2,5 mL metanol ditambahkan aquadest sampai tanda batas.
- b. Larutan Natrium Karbonat 1 M (Pourmorad, *et al.*, 2006).
Ditimbang Natrium Karbonat sebanyak 10,6 g, dilarutkan dengan aquadest dalam labu ukur 100 mL sampai tanda batas, homogenkan.
- c. Pembuatan Pereaksi DPPH (35 µg/mL) (Mosquera, *et al.*, 2007).
Ditimbang sebanyak 0,0100 g DPPH lalu dilarutkan dengan metanol didalam labu ukur

100 mL sampai tanda batas. Kemudian dipipet sebanyak 35 mL, dilarutkan dengan metanol dalam labu ukur 100 mL sampai tanda batas.

Penentuan Kadar Senyawa Fenolat dalam Larutan Sampel

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

Dipipet larutan induk asam galat (5 mg/mL) sebanyak 2 mL dimasukkan kedalam labu ukur 100 mL lalu diencerkan dengan metanol dan aquadest (1:1) sampai tanda batas. Kemudian dipipet 0,5 mL dan dimasukkan kedalam vial, ditambahkan 5 mL reagen Folin-Ciocalteu (diencerkan 1:10 dengan aquadest), lalu tambahkan 4 mL natrium karbonat 1 M, kocok homogen. Kemudian diamkan selama 15 menit. Ukur serapan pada panjang gelombang 400-800 nm dengan spektrofotometer Visibel (Pourmorad, *et al.*, 2006).

2. Penentuan Kurva Kalibrasi Asam Galat – Folin Ciocalteu

Pembuatan konsentrasi dari larutan induk asam galat 5 mg/mL. Dari masing-masing konsentrasi larutan dipipet sebanyak 0,5 mL, masukkan kedalam vial, kemudian ditambahkan 5 mL reagen Folin-Ciocalteu (diencerkan dengan aquadest 1:10) lalu tambahkan 4 mL Natrium Karbonat 1M, kocok homogen. Diamkan selama 15 menit, masukkan kedalam kuvet. Ukur serapan pada panjang gelombang maksimum asam galat Folin-Ciocalteu antara konsentrasi dan serapan. Dibuat kurva kalibrasi persamaan regresi linearnya (Pourmorad, *et al.*, 2006)

3. Penentuan % Perolehan Kembali Larutan Standar Asam Galat

Dipipet sebanyak 1 mL larutan sampel, dimasukkan kedalam vial. Tambahkan 1 mL 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 larutan Natrium karbonat 1M, kocok homogen. Diamkan selama 15 menit, sehingga terbentuk warna kompleks biru, masukkan dalam kuvet. Ukur serapan pada panjang gelombang maksimum asam galat–Folin Ciocalteu dengan spektrofotometer visibel. Hitung konsentrasi larutan dengan menggunakan persamaan regresi asam galat (Pourmorad, *et al.*, 2006).

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 ($\mu\text{g/mL}$)

C_s = Konsentrasi sampel tanpa penambahan larutan standar asam galat ($\mu\text{g/mL}$)

C_a = Konsentrasi asam galat yang ditambahkan ($\mu\text{g/mL}$)

4. Penentuan Kadar Senyawa Fenolat dalam Larutan Sampel.

Dari larutan sampel 500 mg/mL dipipet sebanyak 5 mL masukkan kedalam labu ukur 25 mL kemudian tambahkan pelarut metanol : aquadest (1:1) sampai tanda batas, dihomogenkan. Dari larutan sampel dipipet 0,5 mL dimasukkan kedalam vial kemudian ditambahkan 5 mL pereaksi Folin-Ciocalteu yang sudah diencerkan dalam aquadest 1:10 dan tambahkan 4 mL larutan natrium karbonat 1M dikocok homogen, biarkan selama 15 menit. Ukur serapan pada panjang gelombang maksimum asam galat - Folin Ciocateu dengan spektrofotometer visibel, lakukan tiga kali pengulangan. Tentukan perolehan kadar senyawa fenolat dengan kurva kalibrasi (Pourmorad, *et al.*, 2006).

Penentuan Aktivitas Antioksidan Larutan Sampel dengan Metode DPPH.

1. Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimum DPPH.

Larutan DPPH (35 $\mu\text{g/mL}$) yang baru dibuat dipipet sebanyak 4 mL, dimasukkan kedalam vial dan tambahkan 2 mL campuran metanol : aquadest (1:1), dikocok homogen lalu didiamkan selama 30 menit ditempat gelap. Ukur serapan dengan spektrofotometer visibel pada panjang gelombang 400-800 nm (Pourmorad, *et al.*, 2006).

2. Penentuan IC_{50} Larutan Sampel.

Ditimbang 50 mg ekstrak sampel, masukkan kedalam labu ukur 50 mL kemudian larutkan dengan metanol : aquadest (1:1) kocok homogen. Dari larutan sampel tadi dipipet sebanyak 0,3; 0,6; 0,9; 1,2; 1,5 mL kemudian diencerkan dengan metanol : aquadest (1:1) sampai volume 10 mL sehingga diperoleh konsentrasi 30, 60, 90, 120, 150 $\mu\text{g/mL}$. Masing-masing konsentrasi dipipet sebanyak 2 mL lalu masukkan kedalam vial gelap,

ditambahkan 4 mL larutan standar DPPH, kocok homogen. Biarkan selama 30 menit ditempat gelap. Dimasukkan kedalam kuvet. Ukur serapan larutan dengan spektrofotometer visibel pada panjang gelombang maksimum DPPH. Hitung % inhibisi masing-masingnya. Buat grafik antara konsentrasi larutan sampel dan % inhibisi, sehingga diperoleh persamaan regresi liniernya.

IC_{50} larutan sampel adalah konsentrasi larutan sampel yang akan memberikan inhibisi sebesar 50 % yang dapat dihitung dengan menggunakan persamaan regresi linear yang diperoleh (Mosquera, *et al.*, 2007)

Sebagai pembanding digunakan larutan standar asam galat 5 mg/mL dibuat dengan konsentrasi 1; 2; 3; 4; 5 $\mu\text{g/mL}$. Masing-masing dipipet sebanyak 2 mL, masukkan kedalam botol gelap, tambahkan 4 mL larutan DPPH 35 $\mu\text{g/mL}$, dikocok homogen, biarkan selama 30 menit. Masukkan kedalam kuvet. Ukur serapan larutan dengan spektrofotometer Visibel pada panjang gelombang DPPH. Hitung % inhibisi masing-masingnya. Buat grafik antara konsentrasi larutan pembanding asam galat dan % inhibisi, sehingga diperoleh regresi liniernya

Pengolahan Data.

a. Kadar senyawa fenolat (KSF)

$$KSF = \frac{Fp \times V \times C}{W}$$

Ket : KSF = Kadar Senyawa Fenolat (mg/g)

Fp = Faktor Pengenceran (mL)

V = Volume larutan ekstrak sampel (mL)

C = Konsentrasi senyawa fenolat ($\mu\text{g/mL}$)

W = Berat sampel segar (g).

b. Aktifitas antioksidan sampel ditentukan oleh besarnya hambatan serapan radikal DPPH melalui perhitungan persentase inhibisi serapan DPPH dengan menggunakan rumus :

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

Keterangan :

$A1$ = Serapan radikal DPPH 35 $\mu\text{g/mL}$ ditambah metanol : air (1:1) pada gelombang maksimum DPPH.

A2 = Serapan larutan sampel ditambah larutan radikal DPPH 35 µg/mL pada panjang gelombang maksimum DPPH.

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

Nilai IC₅₀

Masing-masing sampel dihitung nilai IC₅₀ dengan menggunakan rumus persamaan regresi.

Hasil

Dari penelitian yang telah dilakukan didapatkan hasil sebagai berikut :

1. Hasil pemeriksaan metabolit sekunder pada ekstrak buah terung belanda adalah sebagai berikut :

- 1.1 Pemeriksaan Alkaloid :
 - b. Pereaksi Dragendrof=tidak terbentuk(-)
 - c. Pereaksi Meyer =tidak terbentuk(-)
 - d. Peraksi Wagner =tidak terbentuk(-)

- 1.2 Pemeriksaan Flavonoid :
 - a. Pereaksi Mg+HCL_p =tidak terbentuk(+)
 - b. Pereaksi NaOH p = ada terbentuk (+)
 - c. Pereaksi H₂SO₄ = ada terbentuk (+)

- 1.3 Pemeriksaan Saponin :
 - Air = ada terbentuk (+)

- 1.4 Pemeriksaan Terpenoid dan Steroid :
 - a. Pereaksi Kloroform = tidak terbentuk (-)
 - b. Pereaksi H₂SO₄ = tidak terbentuk (-)

- 1.5 Pemeriksaan Tanin :
 - a. Pereaksi Pb Asetat = ada terbentuk (+)
 - b. Pereaksi FeCL₃ = ada terbentuk (+)

2. Hasil penentuan panjang gelombang serapan maksimum asam galat dengan metoda Folin-Ciocalteu yang diukur dengan spektrofotometer visibel diperoleh serapan maksimum pada panjang gelombang maksimum 745 nm dengan serapan 0,701.

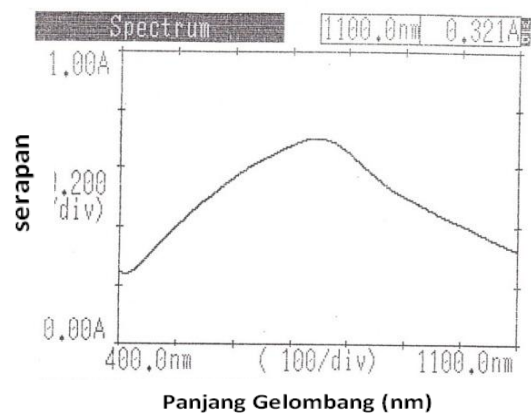
3. Hasil pengukuran absorban untuk penentuan kurva kalibrasi asam galat + reagen Folin-Ciocalteu didapat persamaan regresi $y = 0,0918 + 0,0056x$, dengan koefisien korelasi $(r) = 0,9779$, Simpangan Baku 0,0274, Batas Deteksi 14,6786 µg/mL, dan Batas Kuantitas 48,9286 µg/mL.

4. Hasil pengukuran % perolehan kembali larutan standar asam galat adalah 98,8097 % (ekstrak

I), 100,4764 % (ekstrak II), 100,4763 % (ekstrak III).

5. Hasil pengukuran senyawa fenolat rata-rata pada perlakuan sampel pada Ekstrak 1 (0,28845 mg/g), ekstrak 2 (0,29678 mg/g), ekstrak 3 (0,28964 mg/g).
6. Hasil penentuan panjang gelombang maksimum DPPH 35 µg/mL menunjukkan serapan maksimum 519 nm dengan serapan 0,559.
7. Hasil perhitungan IC₅₀ larutan sampel dari buah terung belanda pada ekstrak 1 (240,0811 µg/mL), ekstrak 2 (204,5010 µg/mL), ekstrak 3 (196,8531 µg/mL).
8. Hasil perhitungan IC₅₀ larutan standar asam galat diperoleh 0,4007 µg/mL.

Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimum Asam Galat Folin-Ciocalteu.

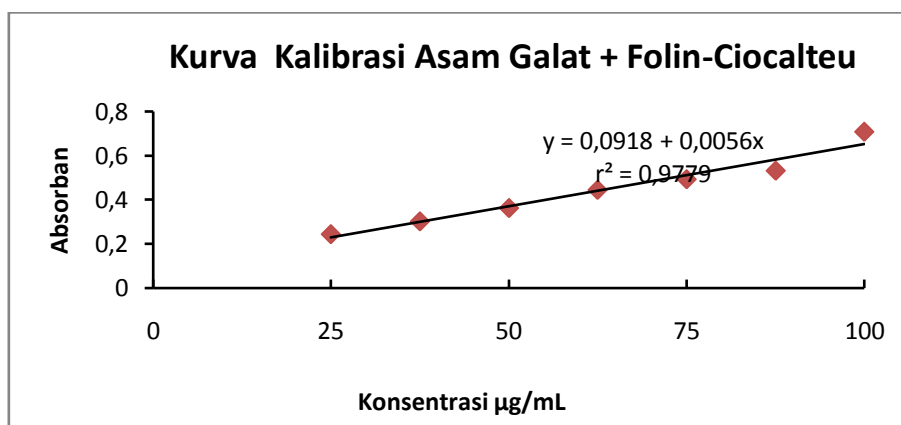


Panjang gelombang	Absorban
745,0 nm	0,701

Gambar 1. Spektrum Panjang Gelombang Serapan Maksimum Asam Galat 100 µg/mL + FolinCiocalteu.

Tabel 1. Data Hasil Pengukuran Absorban Asam Galat + Folin Ciocalteu Pada Panjang Gelombang 745 nm dengan Spektrofotometer Visibel

No	Konsentrasi (µg/mL)	Absorban
1	25	0,245
2	37,5	0,303
3	50	0,364
4	62,5	0,445
5	75	0,494
6	87,5	0,532
7	100	0,710



Gambar 2. Kurva Kalibrasi Larutan Asam Galat + Folin Ciocalteu pada Beberapa Konsentrasi

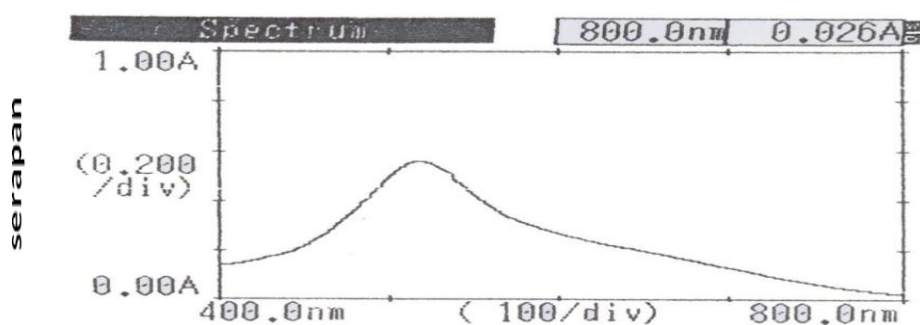
Tabel 2. Hasil Pengukuran Konsentrasi % Perolehan Kembali Larutan Standar Asam Galat.

Ekstrak	Absorban	Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	% perolehan Kembali
I	0,387	52,7143	98,5716
	0,387	52,7143	98,5716
	0,388	55,2143	99,2860
Rata-rata		53,5476	98,8097
Standar Deviasi		1,4434	0,4123
Koefisien Variasi		2,6955	0,4173
II	0,397	54,5	98,5716
	0,398	54,6786	101,4288
	0,398	54,6786	101,4288
Rata-rata		54,5857	100,4764
Standar Deviasi		0,1608	1,6496
Koefisien Variasi		0,2946	1,6418
III	0,389	53,0714	99,2856
	0,396	54,3214	100,7144
	0,399	54,8541	101,4284
Rata-rata		54,0823	100,4763
Standar Deviasi		0,9151	1,0911
Koefisien Variasi		1,6920	1,0859

Tabel 3. Hasil Pengukuran Kadar Senyawa Fenolat dari Buah Terung Belanda dengan Spektrofotometri Visibel Pada Panjang Gelombang 745 nm.

Perlakuan	Absorban	Konsentrasi Senyawa Fenolat ($\mu\text{g/mL}$)	Kadar Senyawa Fenolat Dalam Buah Terung Belanda (mg/g)
I	0,249	28,0714	0,28071
	0,249	28,0714	0,28071
	0,262	30,3928	0,30393
Rata-rata	0,253	28,8452	0,28845
Standar Deviasi		1,3403	0,01341
Koefisien Variasi		4,6465	4,6489
II	0,259	29,8571	0,29857
	0,259	29,8571	0,29857
	0,256	29,3214	0,29321
Rata-rata	0,258	29,6785	0,29678
Standar Deviasi		0,3093	0,0031
Koefisien Variasi		1,0422	1,0445
III	0,250	28,25	0,29143
	0,255	29,1428	0,2825
	0,257	29,5	0,295
Rata-rata	0,254	28,9643	0,28964
Standar Deviasi		0,6438	0,0064
Koefisien Variasi		2,2227	2,2096

Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimum Larutan DPPH 35 $\mu\text{g/mL}$.

**Gambar 3. Spektrum Panjang Gelombang Maksimum Larutan DPPH 35 $\mu\text{g/mL}$.**

Penentuan Aktivitas Antioksidan Asam Galat dan sampel

Tabel 4. Data Penentuan Antioksidan IC₅₀ Larutan pembanding Asam Galat.

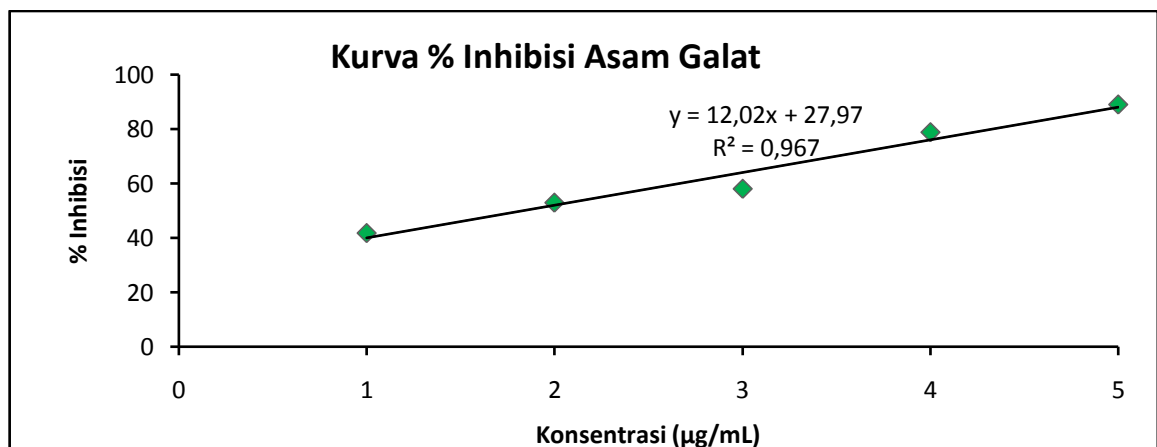
Larutan Pembanding	Konsentrasi (µg/mL)	Absorban			% Inhibisi	IC ₅₀ (µg/mL)
		A1	A2	A3		
Asam Galat	1	0,559	0,403	0,077	41,6816	0,4007
	2		0,329	0,066	52,9517	
	3		0,248	0,013	57,9606	
	4		0,139	0,020	78,7119	
	5		0,099	0,037	88,9088	

Keterangan :

A1 = Serapan larutan radikal DPPH 35µg/mL pada panjang gelombang maksimum DPPH.

A2 = Serapan larutan radikal DPPH 35µg/mL dalam larutan asam galat pada panjang maksimum DPPH.

A3 = Serapan larutan asam galat pada panjang gelombang maksimum DPPH.



Gambar 4. Kurva % Inhibisi Larutan Asam Galat Pada Beberapa Konsentrasi.

Penentuan Antioksidan IC₅₀ Larutan Sampel dari Buah Terung Belanda.**Tabel 5. Data Penentuan antioksidan IC₅₀ Larutan Sampel dari Buah Terung Belanda.**

Larutan Uji Ekstrak	Konsentrasi (µg/mL)	Absorban			% Inhibisi	IC ₅₀ (µg/mL)
		A1	A2	A3		
I	30	0,559	0,555	0,006	1,7889	240,0811
	60		0,504	0,003	10,3757	
	90		0,463	0,002	17,5313	
	120		0,447	0,004	20,7513	
	150		0,398	0,009	30,4114	

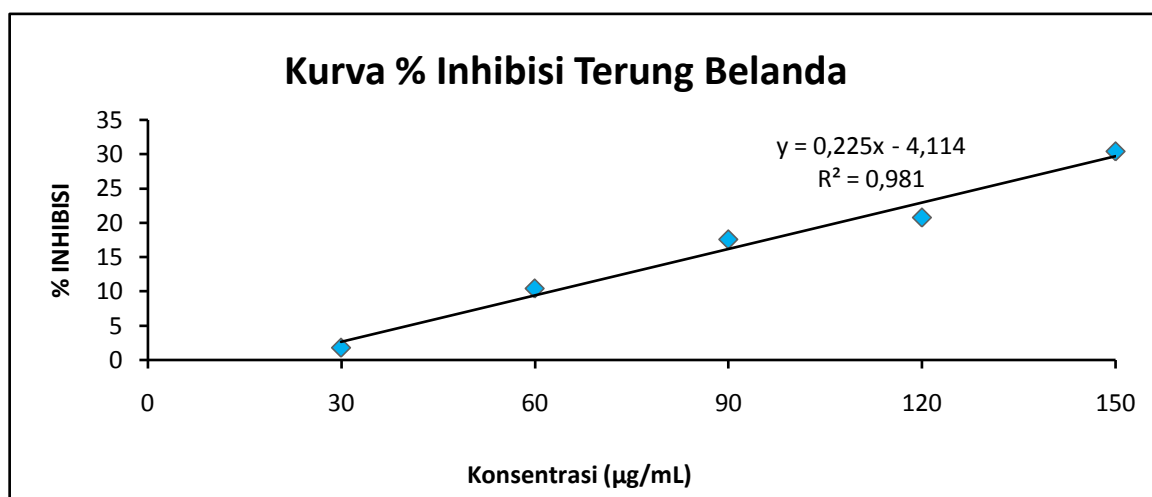
Keterangan :

A1 = Serapan larutan radikal DPPH 35µg/mL pada panjang gelombang maksimum DPPH.

A2 = Serapan larutan radikal DPPH 35µg/mL dalam larutan sampel pada panjang gelombang maksimum

DPPH.

A3 = Serapan Larutan Sampel pada panjang gelombang maksimum DPPH.

**Gambar 5. Kurva % Inhibisi Larutan Sampel Buah Terung Belanda Pada Beberapa Konsentrasi.**

Tabel 6. Data Penentuan antioksidan IC₅₀ Larutan Sampel dari Buah Terung Belanda.

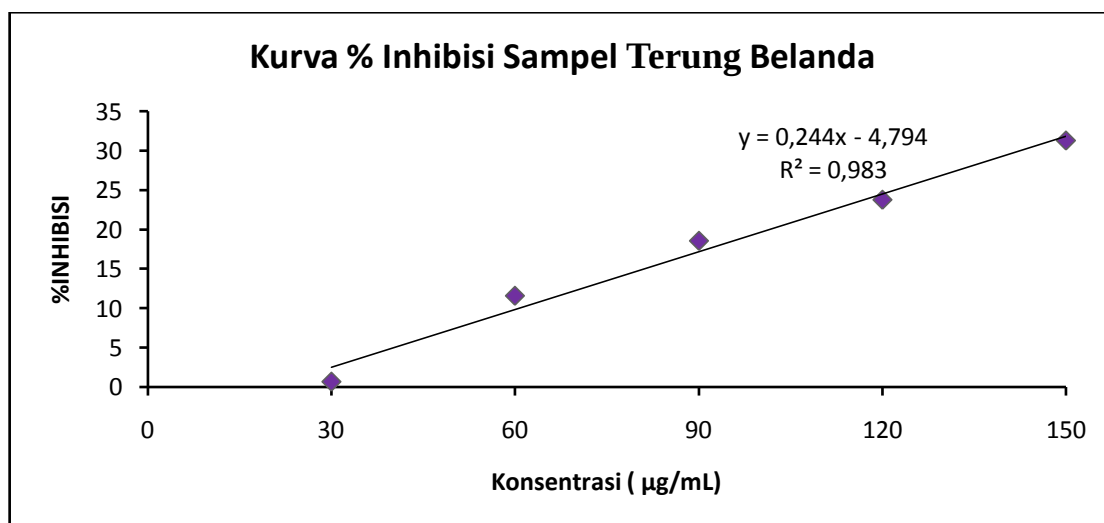
Larutan Uji Ekstrak	Konsentrasi (µg/mL)	Absorban			% Inhibisi	IC ₅₀ (µg/mL)
		A1	A2	A3		
II	30	0,559	0,559	0,004	0,7156	204,5010
	60		0,495	0,001	11,6279	
	90		0,458	0,003	18,6046	
	120		0,435	0,009	23,7925	
	150		0,396	0,012	31,3059	

Keterangan :

A1 = Serapan larutan radikal DPPH 35µg/mL pada panjang gelombang maksimum DPPH.

A2 = Serapan larutan radikal DPPH 35µg/mL dalam larutan sampel pada panjang gelombang maksimum DPPH.

A3 = Serapan Larutan Sampel pada panjang gelombang maksimum DPPH.



Gambar 6. Kurva % Inhibisi Larutan sampel Buah Terung Belanda Pada Beberapa Konsentrasi.

Tabel 7. Data Penentuan antioksidan IC_{50} Larutan Sampel dari Buah Terung Belanda.

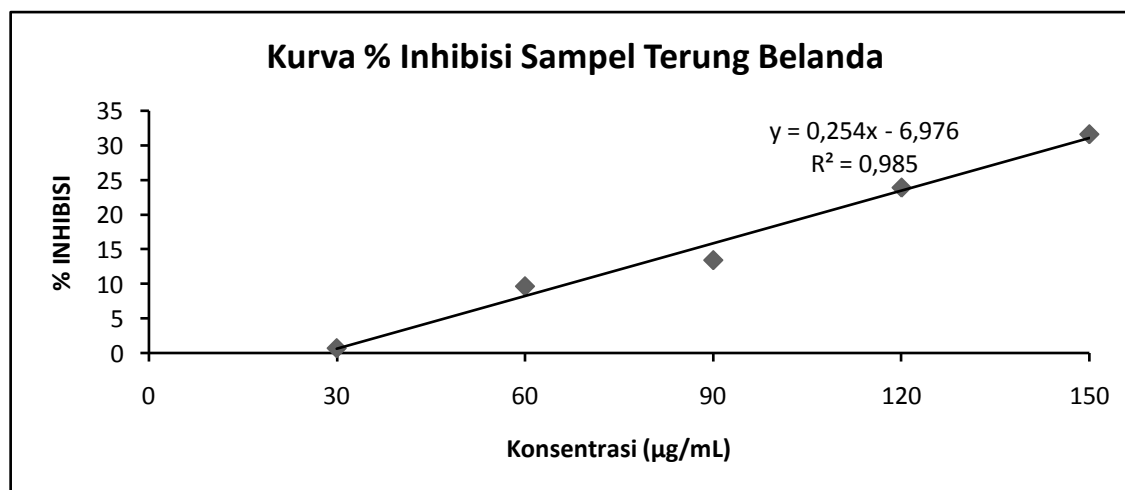
Larutan Uji Ekstrak	Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Absorban			% Inhibisi	IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)
		A1	A2	A3		
III	30	0,559	0,559	0,004	0,7156	196,8531
	60		0,507	0,002	9,6601	
	90		0,487	0,003	13,4168	
	120		0,433	0,008	23,9714	
	150		0,396	0,014	31,6637	

Keterangan :

A1 = Serapan larutan radikal DPPH $35\mu\text{g/mL}$ pada panjang gelombang maksimum DPPH.

A2 = Serapan larutan radikal DPPH $35\mu\text{g/mL}$ dalam larutan sampel pada panjang gelombang maksimum DPPH.

A3 = Serapan Larutan Sampel pada panjang gelombang maksimum DPPH.



Gambar 7. Kurva % Inhibisi Larutan Sampel Buah Terung Belanda Pada Beberapa Konsentrasi.

Pembahasan

Pada hasil pemeriksaan metabolit sekunder ekstrak buah terung belanda dilakukan pemeriksaan alkaloida, flavonoid, terpenoid, steroid, saponin dan tanin. Pemeriksaan Alkaloid direaksikan dengan pereaksi dragendroff didapatkan hasil (-), pereaksi meyer (-), dan pereaksi wagner (-). Pemeriksaan Flavonoid dilakukan uji shinoda (Mg dan HCLp) didapatkan hasil (+), Uji Natrium Hidroksida (+), Uji Asam sulfat (+). Pemeriksaan Terpenoid dan steroid dilakukan uji salkowski untuk uji steroid (-), dan uji terpenoid dilakukan uji dengan Kloroform dan asam sulfat pekat (-). Pemeriksaan Tanin direaksikan dengan pereaksi Pb asetat didapatkan hasil (+), dan dengan pereaksi FeCl_3 , hasilnya (+). Serta pemeriksaan saponin direaksikan dengan air kemudian dikocok kuat-kuat selama 10 detik sehingga terbentuk buih/busanya yang stabil selama tidak kurang 10 menit setinggi 1 – 10 cm.

Sampel yang digunakan adalah sampel segar yang mempunyai kadar air lebih tinggi, sehingga kepolarannya lebih tinggi dibandingkan sampel yang telah dikeringkan. Metoda ekstraksi yang digunakan adalah maserasi karena cara ini merupakan metoda yang mudah dilakukan dan menggunakan alat-alat sederhana, cukup dengan merendam sampel dalam pelarut (Regina *et al.*, 2008). Pelarut yang digunakan untuk ekstraksi adalah etanol 96 %, karena etanol memiliki beberapa keuntungan, yaitu sifatnya yang universal sehingga dapat mengekstraksi semua senyawa yang ada didalam sampel baik polar maupun nonpolar, dapat mencegah oksidasi enzim atau hidrolisis. Selain itu, etanol juga lebih ekonomis karena harganya lebih murah, mudah diperoleh, serta toksisitasnya lebih rendah dibandingkan pelarut lain. Setelah dilakukan maserasi selama 5 hari, kemudian didapatkan ekstrak cair, lalu dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 40°C sampai kental.

Dipilihnya *Rotary evaporator* untuk penguapan karena suhunya bisa diatur dan konstan sehingga kita tidak harus selalu mengatur suhunya. Pada *rotary evaporator* digunakan suasana vakum, hal ini ditujukan agar menurunkan tekanan udara pada permukaan filtrat sehingga akan menurunkan tekanan uap pelarut dan titik didih pelarut juga akan menurun dan pelarut dapat menguap lebih cepat sehingga tidak diperlukan suhu yang tinggi untuk menguapkan pelarut. *Rotary evaporator* mampu menguapkan pelarut dibawah titik didih sehingga zat yang terkandung didalam pelarut tidak rusak oleh suhu yang tinggi. Setelah didapatkan ekstrak kental tersebut, kemudian dilarutkan dalam labu ukur 100 mL dengan campuran metanol:air (1:1)

sampai tanda batas, didapatkan konsentrasi 500 mg/mL yang dihitung dari berat awal sampel (Departemen Kesehatan RI, 2000).

Untuk penentuan kadar senyawa fenolat digunakan pereaksi Folin-Ciocalteu, dimana metoda ini merupakan metoda yang spesifik dan sensitif dengan senyawa fenol dan reagen yang digunakan dalam jumlah sedikit (Waterhouse, 1999). Reagen Folin-Ciocalteu ini berwarna kuning dan akan berubah menjadi larutan kompleks berwarna biru tua jika direaksikan dengan larutan ekstrak sampel yang telah ditambahkan larutan natrium karbonat. Larutan kompleks berwarna biru tua inilah yang akan ditentukan serapannya dengan alat spektrofotometer visibel pada panjang gelombang maksimum 400-800 nm.

Pada penentuan kadar senyawa fenolat dalam larutan sampel, yang pertama kita lakukan adalah penentuan panjang gelombang maksimum asam galat-Folin Ciocalteu, diukur dengan menggunakan spektrofotometri Visibel maka didapatkan panjang gelombang maksimumnya 745 nm dengan serapan 0,701. Setelah dilakukan pengukuran panjang gelombang maksimum asam galat- Folin Ciocalteu ini, baru dilakukan penentuan kurva kalibrasi larutan asam galat. Lalu dibuat larutan asam galat dengan konsentrasi 25, 37,5, 50, 62,5, 75, 87,5, 100 $\mu\text{g/mL}$ yang diukur serapannya dengan panjang gelombang maksimum 745 nm. Pengukuran larutan standar ini bertujuan untuk membantu menentukan kadar senyawa fenolat dalam larutan sampel melalui persamaan regresi dari kurva kalibrasi.

Pembuatan larutan standar dengan konsentrasi diatas memungkinkan absorban senyawa fenolat dari sampel berada dalam rentang konsentrasi larutan standar. Dari pemeriksaan larutan standar asam galat, didapatkan kurva kalibrasi dengan persamaan regresi $y = 0,0918 + 0,0056x$ dan $r = 0,9779$. Tujuan dari pembuatan kurva kalibrasi ini adalah untuk mencari konsentrasi dari masing-masing sampel, melalui persamaan regresi yang diperoleh. Hasil ini menunjukkan bahwa adanya hubungan konsentrasi dengan absorban. Semakin tinggi konsentrasi larutan sampel maka semakin besar absorban yang didapat. Hasil yang diperoleh dari rata-rata kadar senyawa fenolat sampel adalah Ekstrak 1 (0,28845 mg/g), ekstrak 2 (0,29678 mg/g), ekstrak 3 (0,28964 mg/g) (Lampiran 3, Tabel VI). Pada saat melakukan analisa mengenai data yang diperoleh dari hasil penelitian yang dilakukan, terlebih dahulu harus diketahui metoda analisa validasi, yaitu % Perolehan Kembali, Linearitas, Batas Kuantitas (BK), dan Batas Deteksi (BD). Metoda analisa validasi ini bertujuan untuk

memastikan dan mengkonfirmasi bahwa metoda analisa validasi ini sudah sesuai.

Pada penentuan kadar senyawa fenolat ini sebagai larutan pembanding digunakan asam galat. Asam galat merupakan senyawa yang stabil dan murni, lebih murah, dan kestabilan asam galat tidak hilang lebih dari 5%, apabila disimpan pada waktu lebih kurang dua minggu didalam lemari pendingin dan tertutup (Waterhouse, 1999).

Pada penentuan persen perolehan kembali, diukur absorbansi larutan sampel dengan penambahan larutan standar asam galat (50 µg/mL) sebanyak 1 mL, dan diukur juga absorbansi larutan sampel tanpa penambahan larutan standar asam galat, sehingga dapat dihitung persen perolehan kembali asam galat dalam larutan sampel. Dimana hasil yang didapatkan pada persen perolehan kembali larutan standar asam galat ini adalah 98,8097 % (ekstrak I), 100,4764 % (ekstrak II), 100,4763 % (ekstrak III). (lampiran 3, Tabel V) . Dari hasil ini menunjukkan bahwa penetapan kadar senyawa fenolat dengan menggunakan alat spektrofotometer visibel adalah baik, karena nilai persen perolehan kembali ini termasuk pada rentang 98 – 102 % (BPOM, 2001).

Metoda yang digunakan dalam pengujian aktivitas antioksidan adalah metoda DPPH. Metoda ini dipilih karena sederhana, mudah, cepat, serta menggunakan sampel dalam jumlah yang sedikit dengan waktu yang singkat. DPPH merupakan radikal bebas yang stabil pada suhu kamar dan cepat teroksidasi karena udara dan cahaya dengan pemerian serbuk berwarna violet kehitaman.

Pada pelaksanaan uji aktivitas antioksidan sampel terlebih dahulu dilakukan penentuan panjang gelombang maksimum dari pereaksi radikal DPPH pada konsentrasi 35 µg/mL. Dari hasil pengukuran, didapatkan panjang gelombang maksimum 519 nm dengan absorbansi 0,559 (Lampiran 4, Gambar 10). Besarnya aktivitas antioksidan dapat ditentukan dari nilai IC₅₀ yaitu konsentrasi senyawa antioksidan yang memberikan inhibisi 50 %, yang berarti bahwa pada konsentrasi tersebut dapat menghambat radikal bebas sebesar 50%. Uji aktivitas antioksidan larutan sampel diukur pada konsentrasi 30, 60, 90, 120, 150 µg/mL. Hasil yang didapatkan dari nilai IC₅₀ masing-masing ekstrak sampel adalah 240,0811 µg/mL, 204,5010 µg/mL, 196,8531 µg/mL.

Sebagai pembanding digunakan larutan asam galat, dimana asam galat merupakan senyawa yang stabil dan murni, lebih murah, dan kestabilan asam galat tidak hilang dari 5%, apabila disimpan dalam lemari pendingin dalam waktu lebih kurang dua

minggu. Larutan asam galat (5mg/mL) dibuat dengan konsentrasi 1, 2, 3, 4, dan 5 µg/mL, dari absorbansi yang didapat maka dapat dihitung persen inhibisi DPPH. sehingga diperoleh persamaan regresi $y = 0,0031 + 0,4007x$. Dari persamaan ini dapat dihitung nilai IC₅₀ asam galat yaitu 0,4007 µg/mL.

Kesimpulan

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

1. Didapatkan kadar senyawa fenolat yang diperoleh dari ekstrak sampel dengan nilai yaitu 0,28845 mg/g, 0,29678 mg/g, 0,28964 mg/g.
2. Didapatkan hasil IC₅₀ dari sampel pada penentuan aktivitas antioksidan ekstrak I (240,0811 µg/mL), ekstrak II (204,5010 µg/mL), ekstrak III (196,8531 µg/mL) dan sebagai pembanding dari aktivitas antioksidan pada sampel digunakan larutan asam galat 5 µg/mL maka didapatkan nilai IC₅₀ nya 0,4007 µg/mL.

Daftar Pustaka

- Astawan, M, 2007, *Orang Sibuk Perlu Suplemen Antioksidan*, Kompas Cyber Media.
- Badan Pengawasan Obat dan Makanan, 2001, *Petunjuk Operasional Penerapan Cara Pembuatan Obat yang Baik*, Jakarta, Hal 364-423.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000, *Parameter Standart Umum Ekstrak tumbuhan Obat Tradisional*, Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan, Jakarta.
- Evans, C.W., 2002, *Trease and Evans' Pharmacognosy*, 15th Edition, W.B., Saunders Company Ltd, London.
- Harnani, E., Mun'im, A., dan Sekarini, R. (2005). *Identifikasi Senyawa Antioksidan dalam Spons Callyspongia sp dari Kepulauan Seribu*: Majalah Ilmu Kefarmasian. 2(3), 127-133.
- Kaur G. J., & Arora D. S., 2009, *Antibacterial and phytochemical screening of Anethum graveolens, Foeniculum vulgare and Trachyspermum ammi*. BMC Complementary and Alternative Medicine, 9: 30-40.

- Kikuzuki, H., Hisamoto, M., Hirose, K., Akimaya, K., & Taniguchi, H., 2002, *Antioxidants Properties of Ferulic Acid and Its Related Compound*, J. Agric. Food Chem, 50: 2161-2168.
- Kumalaningsih, S., 2006, *Antioksidan Alami Penangkal Radikal Bebas*, Trubus Agrisarana, Surabaya.
- Kumalaningsih, S., 2007, *Antioksidan Alami. Penangkal radikal, sumber, manfaat, cara penyediaan dan pengolahan*, Trubus Agrisarana, Surabaya.
- Morton, J.F., 1987, *Tree Tomatto*, melalui http://Morton/tree_tomato//.htm. Diakses 27 Februari 2011.
- Mosquera, O. M., Y. M. Correa, D. C. Buitrago, & Jaime Nino., 2007, *Antioksidan Activity of Twenty Five Plants from Colombian Biodeiversity, Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro.*, 102(5), 631-634.
- Pourmurad, F., S.J. Hosseinimehr & N. Sgahabimajd, 2006, *Antioxidant Activity, Phenol and Flavonoid Contents of Some Selected Iranian Medicinal Plants*, *African Journal of Biotechnology*, Vol 5 (11), 14-42.
- Pradhan, P., L. Joseph, M. George, N. Kaushik & R. Chuleet, 2010, *Pharmacognostic, Phytochemical & Quantitative Investigation of Saracaasoca Leaves*, *Journal of Pharmacy Research*, 3(4) : 776-780.
- Regina, A., Lisawati, Y dan Maimunah. (2008). *Penentuan Aktifitas Antioksidan kadar Senyawa Fenolat Total dan Likopen Pada Buah Tomat (Solanum Lycopersicum L.)* : *Jurnal Sains Teknologi Farmasi*, Vol. 13, No 1 : 1410-0177.
- Taur, D.J., S.B. Joseph, M. George, N. Kaushik and R. Chuleet, 2010, *Pharmacognostic, Phytochemical & Quantitative Investigation of Saracaasoca Leaves*, *Journal of Pharmacy Research*, 3(4) :776-780.
- Waterhouse, A., 1999, *Folin-Ciocalteu Micro Method For Total Phenol In Wine* *American Journal of Enology and Viticulture*, 28, 1-3.