

Pengaruh Cara Pengeringan terhadap Perolehan Kadar Senyawa Fenolat dan Aktivitas Antioksidan pada Tumbuhan Meniran (*Phyllanthus niruri*, Linn.)

Harrizul Rivai, Nining Hijrahwati dan Mahyuddin
Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi (STIFARM) Padang

Abstract

The effect of drying methods on gaining of phenolic content and antioxidant activity of *Phyllanthus niruri* herbs have been investigated. The phenolic content was determined by using Folin-Ciocalteu method and antioxidant activity was determined by DPPH method. Result of this investigation showed that phenolic content of fresh, air drying, 40°C oven drying, and 60°C oven drying were 4.965 mg/g; 0.972 mg/g; 2.022 mg/g and 1.625 mg/g, respectively. IC₅₀ of these sample were 0.445 mg/mL; 4.030 mg/mL; 0.697 mg/mL and 1.875 mg/mL.

Keyword : Antioksidan, Meniran, senyawa fenolat

Pendahuluan

Beberapa tahun belakangan ini terjadi peningkatan ketertarikan pada peran dari kerusakan oksidasi radikal bebas yang dianggap sebagai faktor utama penyebab berbagai penyakit degeneratif pada manusia. Pemahaman ilmiah tentang hubungan radikal bebas dengan penggunaan antioksidan muncul sebagai langkah yang tepat untuk menghadapi radikal bebas (Sauriasari, 2006; Ramanujam, -). 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. Senyawa yang dikandungnya yaitu lignan, terpen, steroid, alkaloid, tannin, vitamin K dan flavanoid. Kandungan flavanoid yang terdapat pada meniran menunjukkan aktivitas antioksidan (Rahardjo, 2006; Youngson, 2005). Perolehan kadar senyawa fenolat dalam tumbuhan dipengaruhi oleh berbagai faktor seperti cara ekstraksi, tempat tumbuh, cara penyiapan sampel dan lain-lain. Cara penyiapan sampel dapat dilakukan dengan dua cara yaitu penyiapan sampel segar dan penyiapan sampel kering. Tujuan penelitian ini untuk melihat pengaruh cara pengeringan terhadap perolehan kadar senyawa fenolat dan aktivitas antioksidan pada tumbuhan meniran (*Phyllanthus niruri* L.).

Metoda Penelitian

Bahan

Herba Meniran, air suling, natrium karbonat p.a. (Merck), asam galat (Sigma), etanol, reagen Folin-Ciocalteu (Merck), DPPH (Sigma) dan metanol p.a. (Merck).

Alat

Seperangkat alat rotary evaporator (Buchi®), oven (Mettler®), timbangan analitik (Shimadzu® AUX 220) dan alat spektrofotometer UV-Visibel (Shimadzu® 1240).

Pengeringan Sampel

Sampel 1 : sampel segar, tanpa pengeringan
Sampel 2 : pengeringan dengan udara
Sampel 3 : pengeringan oven pada suhu 40°C
Sampel 4 : pengeringan oven pada suhu 60°C

Pembuatan Larutan Sampel

Sampel 1 sebanyak 5 g direndam dengan 50 mL etanol 80 % selama 15 menit kemudian dikocok dengan shaker selama 10 menit, lalu disaring dengan kertas saring (filtrat 1). Ampas dari sampel diekstraksi lagi dengan 50 mL etanol 80 % selama 10 menit kemudian dikocok selama 10 menit, lalu disaring dengan kertas saring (filtrat 2). Ampas tersebut dicuci lagi dengan 50 mL etanol 96 % lalu disaring dengan kertas saring (filtrat 3). Ketiga filtrat dari tiap sampel digabung lalu diuapkan dengan rotary evaporator pada suhu <50°C sampai kental. Sebelum dianalisis, masing-masing ekstrak dilarutkan dalam labu ukur sampai 50 mL dengan

campuran air suling : metanol (1:1) (Mosquera, et al ; 2007).

Penentuan Kadar Senyawa Fenolat Total dalam Larutan

1. Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimum Asam Galat Folin Ciocalteu.
Pipet larutan induk asam galat 5 mg/mL sebanyak 2 mL masukkan kedalam labu ukur 100 mL lalu diencerkan dengan air suling sampai tanda batas. Kemudian dipipet 0,5 mL dan masukkan kedalam vial, tambahkan 5 mL reagen Folin-Ciocalteu (diencerkan 1:10 dengan air suling), lalu tambahkan 4 mL natrium karbonat 1M, kocok homogen. Diamkan selama 15 menit. Ukur serapan pada panjang gelombang 400–800 nm dengan spektrofotometer UV-Visibel dan buat spektrum serapan dan tentukan panjang gelombang maksimumnya.
2. Penentuan Kurva Kalibrasi Asam Galat - Folin Ciocalteu.
Dari larutan induk asam galat 5 mg/mL dipipet 0,5; 1; 1,5; 2; 2,5 dan 3 mL , kemudian diencerkan masing-masingnya dengan air suling dalam labu ukur sampai volume 100 mL sehingga diperoleh konsentrasi 25, 50, 75, 100, 125, 150 µg/mL asam galat. Masing-masing konsentrasi larutan dipipet 0,5 mL tambahkan 5 mL reagen Folin-Ciocalteu (diencerkan 1:10 dengan air suling), lalu tambahkan 4 mL natrium karbonat 1M masukan kedalam vial, kocok homogen. Diamkan selama 15 menit. Ukur serapan pada panjang gelombang 748 nm dengan spektrofotometer UV-Visibel dan buat kurva kalibrasi sehingga persamaan regresi linearnya dapat dihitung.
3. Penentuan Kadar Senyawa Fenolat Total dalam Larutan Sampel
Pipet 0,5 mL larutan sampel, masukkan ke dalam vial kemudian ditambahkan 5 mL reagen Folin-Ciocalteu (diencerkan 1:10 dengan air suling) kemudian tambahkan 4 mL natrium karbonat 1M, kocok homogen. Diamkan selama 15 menit sehingga terbentuk warna kompleks biru, masukan kedalam kuvet, ukur serapan pada panjang gelombang 748 nm dengan spektrofotometer UV-Visibel, lakukan tiga kali pengulangan. Tentukan kadar senyawa fenolat dengan kurva kalibrasi Sampel (Pourmorad, et al; 2006).

Pengukuran Aktivitas Antioksidan Larutan Sampel dengan Metoda DPPH

1. Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimum DPPH
Pipet sebanyak 4 mL larutan DPPH 0,035 mg/mL yang baru dibuat, masukkan kedalam vial dan tambahkan 2 mL campuran air suling : metanol (1:1), kemudian biarkan selama 30 menit di tempat gelap. Masukan dalam kuvet ukur serapan larutan dengan spektrofotometer UV-Visibel pada panjang gelombang 400 – 800 nm.
2. Penentuan IC₅₀ Larutan Sampel
Larutan Sampel 1 dan Sampel 2, dibuat konsentrasi 1, 2, 3, 4 dan 5 mg/mL. Sedangkan untuk sampel 3 konsentrasinya 0,5; 1; 1,5; 2; 2,5 mg/mL dan larutan sampel 4 dibuat konsentrasi 1; 1,5; 2; 2,5 dan 3 mg/mL. Masing-masing konsentrasi dipipet sebanyak 2 mL lalu dimasukkan kedalam vial, tambahkan 4 mL larutan DPPH 0,035 mg/mL. Dibiarkan selama 30 menit di tempat gelap. ukur serapan larutan dengan spektrofotometer UV-Visibel pada panjang gelombang 518,5 nm. Sebagai pembanding digunakan larutan asam galat dengan konsentrasi 1, 2, 3, 4 dan 5 µg/mL, dari masing-masing konsentrasi dipipet 2 mL masukan dalam vial kemudian tambahkan 4 mL larutan DPPH 0,035 mg/mL. Dibiarkan selama 30 menit di tempat gelap. Serapan larutan diukur dengan spektrofotometer UV-Visibel pada panjang gelombang 518,5 nm. Hitung % inhibisi masing-masingnya lalu buat grafik antara konsentrasi dan % inhibisi sehingga diperoleh persamaan regresi linearnya. IC₅₀ larutan sampel dan IC₅₀ asam galat adalah konsentrasi larutan sampel yang akan memberikan inhibisi sebesar 50%.

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

Dimana :

- A1 = Serapan larutan radikal DPPH ditambah metanol air (1:1) pada panjang gelombang maksimum.
- A2 = Serapan larutan sampel ditambah larutan radikal DPPH panjang gelombang maksimum.
- A3 = Serapan larutan sampel ditambah metanol air (1:1) pada panjang gelombang maksimum.
(Keinanen & Tiitto, 1996)

Hasil

Tabel I. Hasil Pengukuran Konsentrasi Senyawa Fenolat Herba Meniran dengan Spektrofotometri UV-Visibel pada panjang gelombang 748 nm

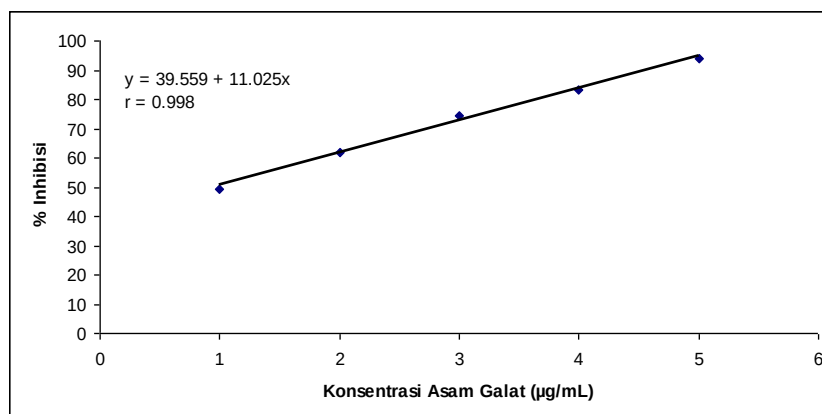
Larutan Sampel	Absorban	Konsentrasi Senyawa Fenolat ($\mu\text{g/mL}$)	Kadar (mg/g)
1. Segar	0,653	99,563	4,975
	0,652	99,407	4,970
	0,650	99,094	4,950
Rata-rata		99,355	4,965
Standar Deviasi		0,237	0,013
Koefisien Variansi (%)		0,238	0,261
2. Kering Angin suhu 25°C	0,637	97,063	0,970
	0,639	97,375	0,974
	0,638	97,219	0,972
Rata-rata		97,219	0,972
Standar Deviasi		0,156	0,002
Koefisien Variansi (%)		0,160	0,205
3. Kering Oven Suhu 40°C	0,674	102,843	2,057
	0,657	100,187	2,003
	0,658	100,543	2,006
Rata-rata		101,124	2,022
Standar Deviasi		1,490	0,030
Koefisien Variansi (%)		1,473	1,484
4. Kering Oven Suhu 60°C	0,539	81,750	1,635
	0,530	80,344	1,607
	0,538	81,594	1,632
Rata-rata		81,229	1,625
Standar Deviasi		0,770	0,016
Koefisien Variansi (%)		0,948	0,947

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

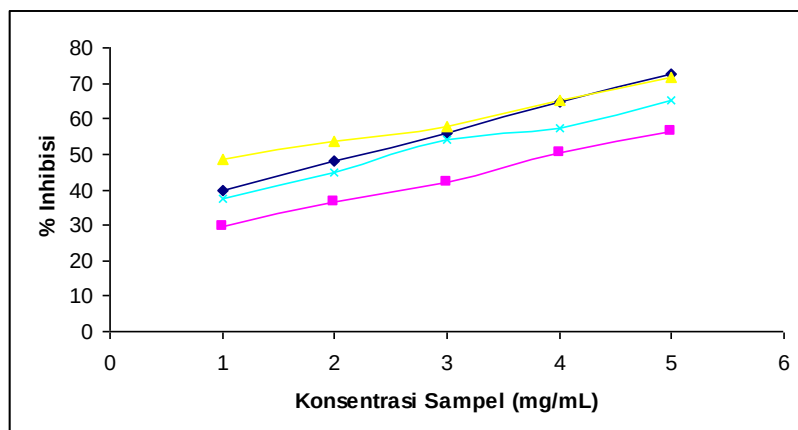
Konsentrasi Asam Galat ($\mu\text{g/mL}$)	Absorban			% Inhibisi	IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)
	A1	A2	A3		
1	0,828	0,423	0,005	49,52	0,947
2	0,828	0,324	0,008	61,84	
3	0,828	0,217	0,006	74,52	
4	0,828	0,148	0,011	83,45	
5	0,828	0,064	0,013	93,84	

Tabel III. Data Hasil Pengukuran IC₅₀ Larutan Sampel Herba Meniran

Larutan Sampel	Konsentrasi (mg/mL)	Absorban			% inhibisi	IC ₅₀ (mg/mL)
		A1	A2	A3		
1. Segar	1	0,828	0,490	0,000	40	0,445
	2	0,828	0,430	0,001	48,18	
	3	0,828	0,363	0,000	56,15	
	4	0,828	0,292	0,002	64,97	
	5	0,828	0,230	0,002	72,46	
2. Kering Angin suhu 25 ⁰ C	1	0,828	0,589	0,006	29,58	4,030
	2	0,828	0,529	0,004	36,59	
	3	0,828	0,482	0,002	42,02	
	4	0,828	0,415	0,003	50,25	
	5	0,828	0,362	0,003	56,64	
3. Kering Oven suhu 40 ⁰ C	0,5	0,828	0,431	0,005	48,55	0,697
	1	0,828	0,393	0,008	53,50	
	1,5	0,828	0,356	0,005	57,60	
	2	0,828	0,292	0,004	65,21	
	2,5	0,828	0,237	0,003	71,73	
4. Kering Oven suhu 60 ⁰ C	1	0,828	0,522	0,004	37,43	1,875
	1,5	0,828	0,463	0,005	44,68	
	2	0,828	0,386	0,005	53,98	
	2,5	0,828	0,361	0,007	57,24	
	3	0,828	0,297	0,008	65,10	



Gambar 1. Kurva IC₅₀ Larutan Pembanding Asam Galat



Gambar 2. Kurva IC_{50} Larutan Sampel dengan 4 Macam Perlakuan

Keterangan :

- ▲ = Sampel Segar
($y = 7,0577x + 16,971$ dan $r = 0,997$)
- = Sampel Kering Angin
($y = 15,414x - 3,7712$ dan $r = 0,9981$)
- ◆ = Sampel Kering Microwave
($y = 15,58x + 5,1932$ dan $r = 0,999$)
- × = Sampel Kering Microwave
($y = 15,58x + 5,1932$ dan $r = 0,999$)

Pembahasan

Antioksidan adalah suatu senyawa yang dapat menghambat reaksi oksidasi penyebab terbentuknya radikal bebas. Senyawa ini bekerja dengan cara mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa radikal bebas. Senyawa antioksidan digolongkan kedalam dua kelompok yaitu antioksidan sintetis dan antioksidan alamiah. Senyawa antioksidan sintetis antara lain BHA (butylated hydroxyanisole) dan BHT (butylated hydroxytoluene). Senyawa antioksidan alamiah antara lain vitamin C, vitamin E, vitamin A, enzim-enzim alamiah seperti glutathione-peroxidase, superoxide-dismutase dan katalase. Selain itu senyawa fenolat seperti asam fenolat, polifenol dan flavanoid juga mempunyai aktivitas sebagai antioksidan yang banyak ditemukan dalam buah, sayuran dan tumbuhan obat. Salah satu jenis tumbuhan tersebut adalah meniran. Dari hasil diatas dapat dilihat bahwa cara pengeringan sampel sangat berpengaruh terhadap aktivitas antioksidan sampel. Dari cara pengeringan yang telah dilakukan, sampel yang dikeringkan dengan oven suhu 40°C memperlihatkan kadar

senyawa fenolat yang tinggi serta aktivitas antioksidan yang paling kuat setelah sampel segar sebagai pembanding. Kemudian diikuti oleh sampel kering oven 60°C dan sampel kering angin pada suhu kamar ($\pm 25^{\circ}\text{C}$). Ini menandakan bahwa senyawa fenolat sampel pada herba meniran lebih stabil pada suhu 40°C . Dapat dilihat juga bahwa semakin tinggi kadar senyawa fenolat dalam sampel maka aktivitas antioksidan sampel semakin kuat.

Kesimpulan

Cara pengeringan sampel memberikan pengaruh terhadap perolehan kadar senyawa fenolat dan aktivitas antioksidan sampel.

Cara pengeringan yang terbaik untuk mendapatkan senyawa fenolat adalah dengan pengeringan angin.

DAFTAR PUSTAKA

Fryer, H.J.L., et al., "Folin-Ciocalteu's Phenol Reagent", *Anal. Biochem.* 153, 262-266 (1986).

Fitriana, Djatmika., " Pengaruh Infusa Herba Meniran (*Phyllanthus niruri*, Linn.) terhadap Penurunan Kadar Asam Urat Serum Darah Tikus Putih Jantan Galur Wistar Hiperurisemia)", diambil <http://www.litbang.depkes.go.id/bpto/Abstrak.shtml>, diakses: 10/01/2009.

Keinanen, M. And R.J. Tiitto, "Effect of Sample Preparation Method on Birch (*Betula Pendulata* Roth) Leaf Phenolics" ,*J. Agric Food Chem.*, 44 : 2724 – 2727, 1996

Latha U, Rajesh MG. (1999): Hepatoprotective effect of ar Ayurvedic medicine, *Indian Drugs.* 36 (7): 470-473.

Ma'at, S., "Ekstrak *Phyllanthus niruri*, Linn. sebagai Imunostimulator pada Infeksi Hepatitis B", Pertemuan Ilmiah Nasional IX. Perhimpunan Peneliti Hati Indonesia, Surabaya, 1997.

Mosquera, O. M., Yaned M. Correa, Diana C. Buitrago, and Jaime Nino, "Antioxidant Activity of Twenty Five Plants from Colombian Biodeirvesity", *Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de janeiro*, 102 (5) : 631 – 634, 2007.

Pourmorad, F., S.J. Hosseini-mehr, N.Sgahabimajd., "Antioxidant Activity, Phenol dan Flavonoid Contents of some Selected Iranian Medicinal Plants", *African Journal of Biotechnology*, Vol 5(11):14-42-1145,2006.

Ramanujam, T. R., " *Free Radicals & Antioxidant Current Status* ", Chennai 600 116, South India.

Rahardjo, M., " *Tanaman berkhasiat antioksidan* ", Penebar Swadaya, Jakarta, 2006.

Sauriasari, R., " *Mengenal dan Menangkal Radikal Bebas* ", diambil [http://www.beritaipetek.com/berita-beritaipetek-2006-01-22-Mengenal-dan-](http://www.beritaipetek.com/berita-beritaipetek-2006-01-22-Mengenal-dan-Menangkal-Radikal-Bebas.shtml)

[Menangkal-Radikal-Bebas.shtml](#), diakses:09/04/2008.

Youngson, Robert, " *Antioksidan: vitamin C & E bagi Kesehatan* ", Arcan, Jakarta, 2005.

