

## KAPASITAS AKTIOKSIDAN DAN KANDUNGAN FENOL TOTAL EKSTRAK ETANOL BEBERAPA BAGIAN TUMBUHAN HUEK (*Eucalyptus alba*)

Dodi Darmakusuma<sup>1,2\*</sup>, Luther Kadang<sup>1</sup>, Suwari<sup>1</sup>, Weni Pujiati<sup>1</sup>, Tutti Sartika<sup>1</sup>, Siti Riswanti Keran<sup>1</sup>, Yublina Lindrawati Boru<sup>1</sup>, Ongki H.S. Fobia<sup>1</sup>, Senkoen A. Manek<sup>2</sup>, Vito A. Payong<sup>2</sup>, Tengku Mohammad Ariff Raja Hussin<sup>3</sup>, Abdullah Mutis<sup>4</sup>, Amor Tresna Karyawati<sup>5</sup>, Leni Heliawati<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Kimia FST Unadana

<sup>2</sup>Laboratorium Riset Terpadu Undana

<sup>3</sup>Fakulti Perubatan, UniSZA, Kuala Terengganu, Malaysia

<sup>4</sup>Food Technology University Malaysia Terengganu, Kuala Terengganu, Malaysia

<sup>5</sup>Program Studi Biologi FST Undana

<sup>6</sup>Program Pascasarjana, Universitas Pakuan, Bogor

### ABSTRAK

Nusa Tenggara Timur sebagai area lahan kering dan kepulauan memiliki kekayaan sumberdaya hayati tumbuhan obat yang khas. Salah satu tumbuhan obat khas adalah Huek (*Eucalyptus alba*). Tujuan penelitian ini adalah menentukan efektivitas ekstraksi buah, kulit batang dan daun tumbuhan Huek (*E. alba*) dengan pelarut etanol serta menentukan kapasitas antioksidan dan kandungan fenol ekstrak etanol tumbuhan Huek (*E. alba*). Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70%. Kapasitas antioksidan didasarkan pada sifat peredaman radikal bebas oleh ekstrak yang ditentukan dengan uji 2,2-difenil-1-pikrilhidridrazil (DPPH). Total kandungan fenol dari ekstrak ditentukan menggunakan metode Folin-Ciocalteu. Hasil penelitian menunjukkan bahwa DER<sub>native</sub> tertinggi adalah pada ekstraksi daun (DER<sub>native</sub>= 12.78). Hal ini menunjukkan bahwa ekstraksi sampel daun dengan pelarutan etanol lebih efisien dibandingkan proses ekstraksi buah (DER<sub>native</sub>= 22.22) dan kulit batang (DER<sub>native</sub>= 25.13). Hasil penelitian ini juga menunjukkan bahwa ekstrak etanol dari buah, kulit batang dan daun tumbuhan Huek (*E. alba*) memiliki potensi antioksidan. Ekstrak buah tumbuhan ini memiliki kapasitas antioksidan tertinggi (93.30%) dibandingkan kapasitas antioksidan ekstrak kulit batang (62.36%) dan ekstrak daun (56.11%). Kandungan fenol total pada ekstrak etanol buah *E. alba* (46.58 GAE/100 g ekstrak) lebih tinggi dibandingkan kandungan fenol total pada ekstrak etanol kulit batang (32.53 GAE/100 g ekstrak) dan buah (27.93 GAE/100 g ekstrak). Hasil penelitian ini menunjukkan adanya korelasi kuat dan positif ( $r^2 = 0.99$ ) antara kapasitas antioksidan ekstrak dengan kandungan fenol total. Fakta ini menunjukkan bahwa kandungan fenol total pada ekstrak etanol Huek (*E. alba*) berperan pada kapasitas antioksidan ekstrak etanol tumbuhan tersebut.

**Kata Kunci:** *Eucalyptus alba*, Ekstrak Etanol, Antioksidan, Total Fenol

Nusa Tenggara Timur (NTT) sebagai area lahan kering dan kepulauan memiliki kekayaan sumberdaya hayati yang khas. Beberapa sumberdaya hayati ini merupakan tumbuhan khas yang secara empirik dimanfaatkan sebagai bahan untuk pengobatan dan memelihara kesehatan.

Salah satu tumbuhan obat khas adalah Huek (*Eucalyptus alba*). Masyarakat Timor telah lama memanfaatkan buah dari tanaman ini untuk pengobatan penyakit hati dan kanker. Selain bagian buah, daun dan kulit batang tumbuhan ini juga dimanfaatkan secara tradisional untuk mengatasi demam, terapi malaria dan meningkatkan daya tahan tubuh terhadap penyakit. Penggunaan tradisional buah tumbuhan ini diduga terkait erat dengan potensinya sebagai antioksidan.

Penelitian bahan tumbuhan ini sebagai bahan aktif berpotensi antioksidan sangat diperlukan dalam pengembangan produk supplement antioksidan. Kajian potensi antioksidan ekstrak etanol sangat penting untuk dilakukan. Hal ini mengingat NTT sangat kaya akan potensi pelarut bioetanol organik.

Potensi antioksidan dapat ditentukan sebagai kapasitas antioksidan dengan menggunakan metode invitro. Kapasitas antioksidan suatu bahan tumbuhan tidak terlepas dari peran senyawa fenol sebagai peredam radikal bebas. Hasil penelusuran literatur belum memperoleh informasi perbandingan kapasitas antioksidan dan kandungan fenol total antara bagian buah, kulit batang daun tumbuhan ini, khususnya yang diekstraksi etanol. Data ini sangat penting untuk pengembangan sumberdaya tumbuhan ini menjadi bahan baku produk inovatif kesehatan, khususnya supplement

antioksidan berbasis sumberdaya hayati lokal NTT.

Tujuan penelitian ini adalah menentukan efektivitas ekstraksi buah, kulit batang dan daun tumbuhan Huek (*E. alba*) dengan pelarut etanol serta menentukan kapasitas antioksidan dan kandungan fenol ekstrak etanol tumbuhan Huek (*E. alba*).

## MATERI DAN METODE

### Penyiapan Sampel dan Ekstraksi

Sampel tumbuhan Huek (*E. alba*) dikumpulkan dari wilayah Amarasi di Pulau Timor, Indonesia pada bulan Mei 2018. Bahan tumbuhan Huek (*E. alba*) dibersihkan dari material lain dan dikeringkan dalam ruang kering-udara pada 18 °C. Sampel yang telah kering di giling dengan menggunakan blender dan di saring dengan menggunakan saringan 50 mesh. Sebanyak 100 g serbuk sampel dimaserasi selama 96 jam menggunakan dalam 300 ml etanol 70% yang dibuat dari etanol absolut. Ekstrak disaring menggunakan kertas saring Whatman No 42 (125 mm). Pelarut etanol diuapkan pada temperatur 40°C dengan menggunakan rotary evaporator hingga diperoleh ekstrak kental dan dilanjutkan dengan pengeringan menggunakan teknik pengeringan lapis tipis pada suhu 18 °C selama 48 jam. Efektivitas ekstraksi ditentukan berdasarkan perhitungan rasio obat herbal terhadap sediaan obat herbal asli (DERnative). Perhitungan DERnative mengadaptasi metode yang dikemukakan oleh Gaedcke dan Steinhoff (2003) dengan rumus :

$$X = [\text{Bahan(kg)} / \text{Ekstrak(kg)}] \times 1$$

### Penentuan Kapasitas Antioksidan

Penentuan Kapasitas antioksidan didasarkan pada sifat peredaman radikal bebas oleh ekstrak yang ditentukan dengan uji 2,2-difenil-1-pikrilhidridrazil (DPPH). Metode ini diadaptasi dari prosedur yang dikemukakan oleh Que, *et. al.* (2006), Stef, *et. al.* (2009), Darmakusuma, *et. al.* (2015) dengan sedikit modifikasi. Campuran uji yang mengandung 2 ml larutan ekstrak 100 ppm dan 2 ml DPPH (0,2 mM dalam metanol). Prosedur yang sama dilakukan pada blank (2 ml pelarut metanol). Sampel diinkubasi pada 25 °C dalam gelap selama 40 menit. Penurunan absorbansi DPPH diukur pada  $\lambda = 517$  nm. Potensi antioksidan dinyatakan sebagai persentase Kapasitas Total Antioksidan (TAC) yang dihitung dengan persamaan:

$$\text{TAC dari DPPH (\%)} = \frac{(A_{\text{blank}} - A_{\text{sample}})}{A_{\text{blank}}} \times 100\%$$

Nilai persentase TAC dinyatakan sebagai mean  $\pm$  standar deviasi dari 3 kali pengulangan.

### Penentuan Total Kandungan Fenolik

Total kandungan fenol dari ekstrak ditentukan menggunakan metode Folin-Ciocalteu seperti yang dijelaskan oleh Asami *et. al.* (2003) dengan modifikasi. Asam galat digunakan sebagai standar fenol. Disiapkan 0,2 mg / mL larutan asam galat dalam aquadest sebagai standar induk. Larutan standar induk fenol ini diencerkan dalam beberapa konsentrasi antara 0,1 dan 0,2 mg / mL. Masing-masing sebanyak 5 mL larutan standar fenol dipindahkan ke tabung reaksi, kemudian ditambah 2,5 mL reagen Folin-Ciocalteu 10%. Setelah 5 menit, campuran ditambahkan 2,5 mL NaHCO<sub>3</sub> 20% dan didiamkan pada suhu kamar.

Setelah 90 menit, absorbansi dibaca menggunakan spektrofotometer UV / Vis pada  $\lambda_{\text{max}} = 765$  nm. Perlakuan yang sama digunakan pada masing-masing ekstrak dengan konsentrasi 10000 ppm. Total kandungan fenol ekstrak ditentukan berdasarkan pada plot kurva kalibrasi standar asam galat. Total kandungan fenol formula dinyatakan sebagai mg ekuivalen asam galat / g (mg GAE / g).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Hasil Ekstraksi Buah *E. alba*

Nilai rasio obat herbal terhadap sediaan obat herbal asli dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. DER<sub>native</sub> Ekstraksi buah etanol 70% *E. alba*

Sample	DER <sub>native</sub>
Ekstrak Buah	22.22
Ekstrak Kulit Batang	25.13
Ekstrak Daun	12.78

DER<sub>native</sub>: Rasio obat herbal terhadap sediaan obat herbal asli

Rasio obat herbal terhadap sediaan obat herbal asli (DER<sub>native</sub>) adalah rasio massa obat herbal (bahan awal) terhadap massa hasil sediaan obat herbal asli (ekstrak hasil ekstraksi). Berdasarkan nilai DER<sub>native</sub> pada tabel 2 diketahui hasil ekstraksi terkecil adalah ekstrak kulit batang, dimana untuk menghasilkan 1 kg ekstrak diperlukan 25.13 Kg kulit batang segar tumbuhan ini. Hasil ekstraksi daun tumbuhan ini menghasilkan jumlah ekstrak yang lebih banyak dibandingkan ekstraksi bagian lain, dimana untuk menghasilkan 1 kg ekstrak hanya diperlukan 12.78 Kg bahan segar daun tumbuhan ini.

### Aktivitas Antioksidan

Setelah ekstraksi dilakukan penentuan kapasitas antioksidan terhadap ekstrak etanol buah, kulit batang dan daun tumbuhan Huek (*E. alba*). Tahap ini sangat penting untuk memastikan bahwa bagian tumbuhan ini yang digunakan secara tradisional untuk pengobatan merupakan bagian yang memiliki potensi antioksidan. Hasil dari pengujian ini dapat dilihat dalam tabel 2.

Tabel 2. Kapasitas antioksidan ekstrak *E. alba* 100 ppm

Ekstrak	Kapasitas Antioksidan Total (%)
Buah	93.30 ± 0.365
Kulit Batang	62.36 ± 0.244
Daun	56.11 ± 0.141

Hasil penelitian ini merupakan fakta yang menguatkan dugaan bahwa ketiga bagian tumbuhan tersebut memiliki potensi antioksidan. Berdasarkan tabel hasil pengujian kapasitas antioksidan di atas, diketahui bahwa ekstrak etanol buah tumbuhan ini memiliki kapasitas antioksidan tertinggi (93.30%) dibandingkan kapasitas antioksidan ekstrak etanol kulit batang (62.36%) dan ekstrak etanol daun (56.11%).

Fakta-fakta penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol buah, kulit batang dan daun tumbuhan ini berpotensi digunakan sebagai bahan baku produk *supplement* antioksidan. Potensi antioksidan ekstrak ini memiliki manfaat sebagai pelindung tubuh manusia terhadap

kerusakan dan penyakit yang disebabkan oleh radikal bebas yang memicu stres oksidatif (Jacob and Burri, 1996; Salganik, 2001; Dodi Darmakusuma, *et. al.* 2015; Gupta, *et. al.* 2013; Qureshi, *et. al.* 2015; Pizzino *et. al.* 2017).

### Kandungan Fenol Total

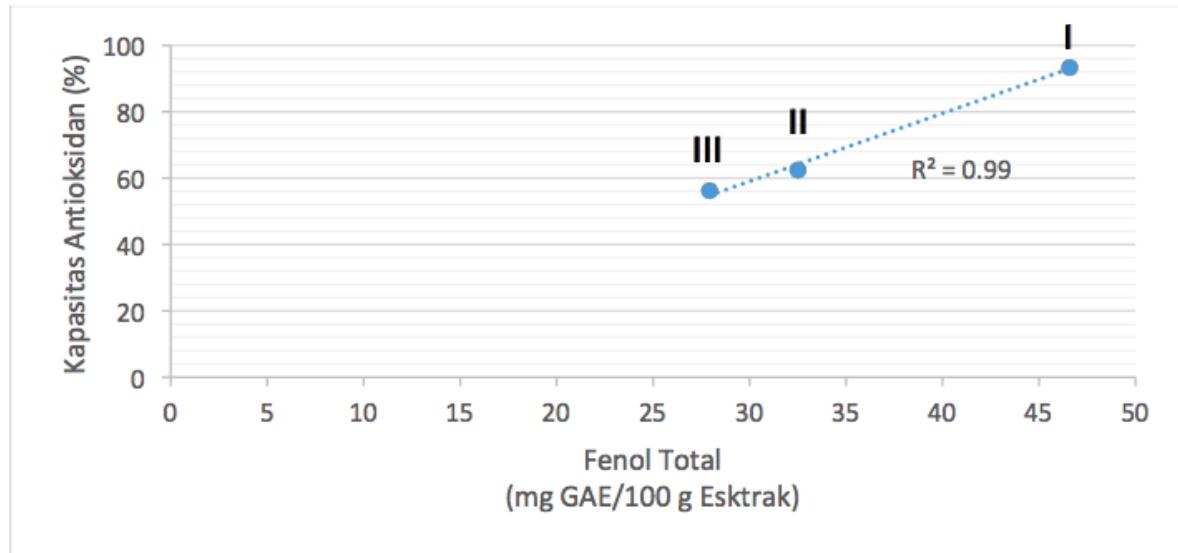
Hasil penentuan Kandungan fenol total dari ekstrak etanol dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Kandungan fenol total dari ekstrak etanol *E. alba*

Ekstrak	Fenol Total (mg GAE/100 g dalam Ekstrak)
Buah	46.58 ± 0.885
Kulit Batang	32.53 ± 1.171
Daun	27.93 ± 0.433

Kandungan fenol total pada ekstrak etanol buah Huek (46.58 GAE/100 g ekstrak) lebih tinggi dibandingkan kandungan fenol total pada ekstrak etanol kulit batang (32.53 GAE/100 g ekstrak) dan buah (27.93 GAE/100 g ekstrak).

Berdasarkan tabel 2 dan tabel 3 diketahui bahwa tingkat kapasitas antioksidan berkorelasi dengan kandungan fenol suatu ekstrak. Korelasi tersebut digambarkan pada gambar 1.



Keterangan: I ekstrak etanol buah, II ekstrak etanol kulit batang, III ekstrak etanol daun

Gambar 1. Korelasi antara kapasitas antioksidan ekstrak dengan kandungan fenol total pada ekstrak etanol Huek (*E. alba*).

Berdasarkan grafik tersebut diketahui bahwa terdapat korelasi kuat dan positif ( $r^2 = 0.99$ ) antara kapasitas antioksidan ekstrak dengan kandungan fenol total. Hal ini sejalan dengan beberapa hasil penelitian yang telah dilakukan sebelumnya yang menunjukkan adanya hubungan yang erat antara kapasitas antioksidan dan kandungan fenol total (Turkmen et. al., 2006; Tawaha et. al., 2007; Li et. al., 2008; Hodzic et. al. 2009; De Oliveira et. al., 2012; Do et. al., 2014; Hossain and Shah, 2015; Złotek et. al., 2016; Kumari et. al., 2017; Kalaycıoğlu and Erim, 2017; Beta and Hwang, 2018; de Falco et. al., 2018).

Berdasarkan korelasi yang kuat antara kapasitas antioksidan ekstrak dengan kandungan fenol total, maka diduga kandungan fenol total pada ekstrak etanol Huek (*E. alba*) berperan pada

kapasitas antioksidan ekstrak etanol tumbuhan tersebut.

## PENUTUP

### Simpulan

Hasil penelitian menunjukkan bahwa DER<sub>native</sub> tertinggi adalah pada ekstraksi daun (DER<sub>native</sub>= 12.78). Hal ini menunjukkan bahwa ekstraksi sampel daun dengan pelarutan etanol lebih efisien dibandingkan proses ekstraksi buah (DER<sub>native</sub>= 22.22) dan kulit batang (DER<sub>native</sub>= 25.13). Hasil penelitian ini juga menunjukkan bahwa ekstrak etanol dari buah, kulit batang dan daun tumbuhan Huek (*E. alba*) memiliki aktivitas antioksidan. Ekstrak buah tumbuhan ini memiliki kapasitas antioksidan tertinggi (93.30%) dibandingkan kapasitas antioksidan ekstrak kulit batang (62.36%) dan ekstrak daun (56.11%).

Kandungan fenol total pada ekstrak etanol buah *E. alba* (46.58 GAE/100 g ekstrak) lebih tinggi dibandingkan kandungan fenol total pada ekstrak etanol kulit batang (32.53 GAE/100 g ekstrak) dan buah (27.93 GAE/100 g ekstrak). Hasil penelitian ini menunjukkan adanya korelasi kuat dan positif ( $r^2 = 0.99$ ) antara kapasitas antioksidan ekstrak dengan kandungan fenol total. Fakta ini menunjukkan bahwa kandungan fenol total pada ekstrak etanol Huek (*E. alba*) berperan pada kapasitas antioksidan ekstrak etanol tumbuhan tersebut.

### UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini merupakan bagian dari hibah “Penelitian Terapan Unggulan Perguruan Tinggi” yang dibiayai oleh Kementerian Riset dan Pendidikan Tinggi Republik Indonesia. Penulis juga mengucapkan rasa terima kasih kepada Kepala Laboratorium Riset Terpadu Undana, Ketua LPPM Undana dan Assoc. Prof. Nurul Huda dari Universiti Malaysia Sabah.

### DAFTAR PUSTAKA

Asami, D. K., Hong, Y. J., Barrett, D. M., and Mitchell, A. E. 2003. Comparison of the total phenolic and ascorbic acid content of freeze-dried and air-dried marionberry, strawberry, and corn grown using conventional, organic, and sustainable agricultural practices. *Journal of agricultural and food chemistry*, 51(5), 1237-1241

- Beta, T., and Hwang, T. 2018. Influence of heat and moisture treatment on carotenoids, phenolic content, and antioxidant capacity of orange maize flour. *Food chemistry*, 246, 58-64
- Darmakusuma, D., Datta, F. U., Suwari, Karyawati, A. T., and Kadang, L. 2015. Antioxidant and Anticancer Activities of Ethanolic Extract of Laportea sp Fruit. *Bull. Env. Pharmacol. Life Sci*, 4, 109-112
- De Falco, B., Fiore, A., Rossi, R., Amato, M., and Lanzotti, V. 2018. Metabolomics driven analysis by UAEGC-MS and antioxidant activity of chia (*Salvia hispanica* L.) commercial and mutant seeds. *Food chemistry*, 254, 137-143
- De Oliveira, A. M. F., Pinheiro, L. S., Pereira, C. K. S., Matias, W. N., Gomes, R. A., Chaves, O. S., de Sauza, M., D. V., de Almeida, R., N., and de Assis, T. S. 2012. Total Phenolic Content and Antioxidant Activity of Some Malvaceae Family Species. *Antioxidants*, 1(1), 33-43
- Do, Q. D., Angkawijaya, A. E., Tran-Nguyen, P. L., Huynh, L. H., Soetaredjo, F. E., Ismadji, S., and Ju, Y. H. 2014. Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica*. *Journal of food and drug analysis*, 22(3), 296-302

- Gupta, R.K., Gupta, A.K., Swain, S.R., Vaishali, Gupta, G., Khalid, S., Suresh, D.K., and Singh, R.K. 2013. Anti-hepatotoxic and antioxidant influence of Ipomoea carnea against anti-tubercular drugs induced acute hepatopathy in experimental rodents. *Journal of Coastal Life Medicine*, 1(4), 293-299
- Hodzic, Z., Pasalic, H., Memisevic, A., Srabovic, M., Saletovic, M., and Poljakovic, M. 2009. The influence of total phenols content on antioxidant capacity in the whole grain extracts. *European Journal of Scientific Research*, 28(3), 471-477
- Hossain, M. A., & Shah, M. D. (2015). A study on the total phenols content and antioxidant activity of essential oil and different solvent extracts of endemic plant Merremia borneensis. *Arabian Journal of Chemistry*, 8(1), 66-71
- Jacob, R. A., and Burri, B. J. 1996. Oxidative damage and defense. *The American journal of clinical nutrition*, 63(6), 985S-990S
- Kalaycıoğlu, Z., and Erim, F. B. 2017. Total phenolic contents, antioxidant activities, and bioactive ingredients of juices from pomegranate cultivars worldwide. *Food chemistry*, 221, 496-507
- Kumari, D., Madhujith, T., and Chandrasekara, A. 2017. Comparison of phenolic content and antioxidant activities of millet varieties grown in different locations in Sri Lanka. *Food science & nutrition*, 5(3), 474-485
- Li, H. B., Wong, C. C., Cheng, K. W., and Chen, F. 2008. Antioxidant properties in vitro and total phenolic contents in methanol extracts from medicinal plants. *LWT-Food Science and Technology*, 41(3), 385-390
- Que, F., Mao, L., Zhu, C., and Xie, G. 2006. Antioxidant properties of Chinese yellow wine, its concentrate and volatiles. *LWT-Food Science and Technology*, 39(2), 111-117
- Qureshi, M. N., Kuchekar, B. S., Logade, N. A., and Haleem, M. A. 2010. In-vitro Antioxidant and In-vivo Hepatoprotective Activity of Leucas ciliata L. *Records of Natural Products*, 4(2), 124
- Pizzino, G., Irrera, N., Cucinotta, M., Pallio, G., Mannino, F., Arcoraci, V., Squadrato, F., Altavilla, D., and Bitto, A. 2017. Oxidative stress: harms and benefits for human health. *Oxidative medicine and cellular longevity*
- Salganik, R. I. 2001. The benefits and hazards of antioxidants: controlling apoptosis and other protective mechanisms in cancer patients and the human population. *Journal of the American college of nutrition*, 20(sup5), 464S-472S
- Ştef, D. S., Gergen, I., Traşcă, T. I., Monica Hărmănescu, Ş. L., Ramona, B., and Hegheduş, M. (2009). Total antioxidant and radical scavenging capacities for different medicinal herbs. *Romanian Biotechnological Letters*, 14(5), 4705-4710

- Tawaha, K., Alali, F. Q., Gharaibeh, M., Mohammad, M., and El-Elimat, T. 2007. Antioxidant activity and total phenolic content of selected Jordanian plant species. *Food chemistry*, 104(4), 1372-1378
- Turkmen, N., Sari, F., and Velioglu, Y. S. 2006. Effects of extraction solvents on concentration and antioxidant activity of black and black mate tea polyphenols determined by ferrous tartrate and Folin–Ciocalteu methods. *Food chemistry*, 99(4), 835-841
- Złotek, U., Mikulska, S., Nagajek, M., and Świeca, M. 2016. The effect of different solvents and number of extraction steps on the polyphenol content and antioxidant capacity of basil leaves (*Ocimum basilicum* L.) extracts. *Saudi journal of biological sciences*, 23(5), 628-633