

AKTIVITAS ANTIOKSIDAN, KADAR FENOL DAN FLAVONOID TOTAL DARI ENAM TUMBUHAN OBAT INDONESIA (Antioxidant Activity, Total Phenol and Flavonoid From Six Indonesian Medicinal plants)

Mohamad Rafi^{1,2}, Niken Widyastuti², Elly Suradikusumah², Latifah Kosim Darusman^{1,2}

¹Pusat Studi Biofarmaka, Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat, Institut Pertanian Bogor; ²Departemen Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor

Abstrak

Aktivitas antioksidan dan korelasinya dengan kadar fenol dan flavonoid total dari 6 tumbuhan obat Indonesia telah diteliti. Tumbuhan obat yang digunakan yaitu jati belanda (*Guazuma ulmifolia* Lamk.), kedaung (*Parkia roxburghii* G.Don.), kumis kucing (*Orthosiphon stamineus* Benth.), sambiloto (*Andrographis paniculata* Ness.), sidaguri (*Sida rhombifolia* Linn.), dan tempuyung (*Sonchus arvensis* Linn.). Pengukuran aktivitas antioksidan dilakukan menggunakan metode CUPRAC (cupric ion reducing antioxidant capacity), DPPH (1,1-difenil-1-pikrilhidrazil), dan FRAP (ferric reducing antioxidant power). Keenam tumbuhan obat yang diuji dengan tiga metode tersebut diketahui memiliki aktivitas antioksidan. Kedaung memiliki aktivitas antioksidan tertinggi diantara sampel yang diuji. Hasil pengukuran aktivitas antioksidan dengan metode CUPRAC, DPPH, dan FRAP memberikan nilai aktivitas antioksidan yang berbeda secara signifikan kecuali antara sambiloto dan tempuyung dengan metode CUPRAC dan DPPH tidak memberikan perbedaan nilai yang signifikan. Aktivitas antioksidan dari ketiga metode yang digunakan berkorelasi kuat dengan kadar fenol total tetapi tidak memiliki korelasi dengan flavonoid total, sehingga aktivitas antioksidan tidak hanya bersumber dari golongan flavonoid saja.

Kata kunci: Aktivitas antioksidan, fenol total, flavonoid total, tumbuhan obat

Abstract

The antioxidant activities and their correlation with total phenol and flavonoid contents of six medicinal plants grown in Indonesia had been investigated. The medicinal plants used in this study were bastard cedar (*Guazuma ulmifolia* Lamk.), kedaung (*Parkia roxburghii* G.Don.), java tea (*Orthosiphon stamineus* Benth.), king of bitters (*Andrographis paniculata* Ness.), arrow-leaf sida (*Sida rhombifolia* Linn.), and perennial sow thistle (*Sonchus arvensis* Linn.). Measurement of antioxidant activities were carried out using the following methods: CUPRAC (cupric ion reducing antioxidant capacity), DPPH (1,1-diphenyl-1-picrylhydrazyl), and FRAP (ferric reducing antioxidant power). These six medicinal plants were tested with the three methods and were found to have antioxidant activities. Kedaung had the highest antioxidant activity among the samples tested. The values of antioxidant activities with CUPRAC, DPPH, and FRAP assays were significantly different, except between king of bitters and perennial sow thistle in CUPRAC and DPPH assays where no significant differences were observed. All antioxidant activity values obtained were highly correlated with total phenol content but not with total flavonoid, so the antioxidant activity must be contributed not only by the flavonoids.

Keywords: antioxidant activity, total phenol, total flavonoid, medicinal plant

Naskah diterima tanggal 12 Juni 2012, disetujui untuk dimuat 1 Agustus 2012

Alamat Korespondensi: Pusat Studi Biofarmaka, Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat, Institut Pertanian Bogor, Jl. Taman Kencana No. 3, Kampus IPB Taman Kencana, Bogor 16128, Indonesia

PENDAHULUAN

Pengobatan tradisional di Indonesia telah lama memanfaatkan tumbuhan obat yang lebih dikenal sebagai jamu. Jenis tumbuhan obat yang dipakai telah lama digunakan oleh masyarakat dan diwariskan secara turun temurun. Tumbuhan

obat tersebut umumnya memiliki bermacam aktivitas biologis, salah satunya yaitu antioksidan. Antioksidan dipercaya memainkan peranan penting dalam sistem pertahanan tubuh terhadap spesi oksigen reaktif yang dapat menginduksi stres oksidatif(1).

Stres oksidatif berpotensi dalam menghasilkan kerusakan oksidatif lipid, protein, enzim dan asam nukleat yang selanjutnya menuju pada kerusakan tingkat selular, jaringan dan organ. Keadaan ini menyebabkan timbulnya berbagai gejala penyakit degeneratif seperti kanker (2) dan aterosklerosis (3). Risiko timbulnya penyakit akibat stress oksidatif dapat diminimalkan dengan konsumsi antioksidan dari tumbuhan sebagai bahan makanan maupun pelengkap diet (*dietary supplement*).

Saat ini telah banyak dilakukan pencarian senyawa antioksidan alami untuk menggantikan antioksidan sintetis pada makanan maupun obat. Tumbuhan dapat menjadi sumber potensial antioksidan yang hingga saat ini telah banyak diteliti. Aktivitas antioksidan dari suatu tumbuhan umumnya ditimbulkan oleh adanya senyawa fenolik baik sebagai polifenol maupun asam fenolat yang terkandung di dalamnya. Turunan senyawa fenolik merupakan salah satu metabolit sekunder terbesar yang diproduksi oleh tumbuhan. Senyawa fenolik dapat memiliki aktivitas sebagai antioksidan, antitumor, antiviral, dan antibiotik dan diantara senyawa fenol alami yang telah diketahui lebih dari seribu struktur, flavonoid merupakan golongan terbesar (4).

Jati belanda (*G. ulmifolia*), kedaung (*P. roxburghii*), kumis kucing (*O. stamineus*), sambiloto (*A. paniculata*), sidaguri (*S. rhombifolia*), dan tempuyung (*S. arvensis*) merupakan tumbuhan obat Indonesia yang telah diketahui mengandung senyawa fenolik. Beberapa penelitian sebelumnya telah diketahui bahwa keenam tanaman tersebut memiliki aktivitas antioksidan (5-10). Untuk lebih mengakuratkan nilai aktivitas antioksidan maka dalam penelitian ini menggunakan tiga metode pengukuran aktivitas antioksidan dan nilai aktivitas dinormalisasikan sebagai ekuivalen troloks per gram sampel. Selain itu diperlukan pula kadar senyawa fenol yang terkandung di dalam tumbuhan yang diuji untuk mengetahui adakah korelasinya dengan aktivitas antioksidan yang dihasilkan.

Dalam tulisan ini akan dijabarkan mengenai evaluasi aktivitas antioksidan, penentuan kadar fenol dan flavonoid total dari enam tumbuhan yang telah disebutkan sebelumnya. Pengukuran aktivitas antioksidan dilakukan menggunakan tiga metode yaitu CUPRAC, DPPH, dan FRAP. Selain itu juga dilakukan korelasi antara aktivitas antioksidan dengan kadar senyawa golongan fenol dan flavonoid

yang terukur dari enam tumbuhan obat yang diteliti.

METODOLOGI

Alat

Alat ukur analitis yang digunakan untuk penelitian ini ialah spektrofotometer UV-Vis U-2800 yang dilengkapi dengan kuvet kuarsa 10 mm dan dioperasikan dengan peranti lunak UV solution versi 2.0 (Hitachi, Tokyo, Jepang).

Bahan

Bahan tumbuhan yang dipakai ialah simplisia kering daun jati belanda, kedaung, daun dan batang kumis kucing, sambiloto, sidaguri, serta tempuyung. Bahan kimia yang digunakan yaitu DPPH, pereaksi Folin-Ciocalteu, kupri klorida dua hidrat, asam klorida, ammonium asetat, etanol, methanol, dan etil asetat yang dibeli dari Merck (Darmstadt, Jerman). Neocuproin, 2,4,6-tripiridil-s-triazin (TPTZ), feri klorida enam hidrat, alumunium klorida, natrium karbonat, kuersetin, asam galat, troloks yang dibeli dari Sigma-Aldrich (Palo Alto, Amerika Serikat).

Metode

Penyiapan dan Ekstraksi Sampel

Sampel tumbuhan dikeringkan terlebih dahulu secara kering udara, kemudian dihaluskan alat penggiling dan penyaring hingga ukuran 100 mesh. Serbuk tumbuhan yang diperoleh kemudian diekstraksi dengan cara maserasi menggunakan etanol 70% selama 72 jam. Rasio perbandingan bobot sampel dan pelarut pengestrak sebesar 1:13. Ekstrak dipekatkan dengan penguap vakum putar yang kemudian dikeringkan menggunakan pengering beku.

Aktivitas Antioksidan dengan Metode CUPRAC

Prosedur pengukuran aktivitas antioksidan dengan metode CUPRAC mengacu kepada Apak *et al.*, (11). Sebanyak 25 mg ekstrak kering sampel dilarutkan dalam 25 mL etanol 96% lalu diambil 1 mL larutan sampel tersebut dan ditambahkan 1 mL $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0,01M, 1 mL neocuproin (dalam etanol) 0,0075 M, 1 mL bufer amonium asetat 1 M (pH 7) dan 0,1 mL akuades. Larutan kemudian didiamkan selama 30 menit dan absorbans diukur pada panjang gelombang (λ) 450 nm. Kurva kalibrasi dibuat menggunakan troloks dengan rentang nilai konsentrasi antara 25-200 M. Kapasitas antioksidan terukur dinyatakan dalam μmol ekuivalen troloks/g sampel ($\mu\text{mol ET/g}$).

Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH
Metode DPPH yang digunakan mengacu kepada Blois (1958) yang telah dimodifikasi oleh Hanani *et al.*, (12). Larutan DPPH 1mM (dalam metanol) sebanyak 1 mL dimasukkan kedalam tabung reaksi. Ekstrak etanol sampel sebanyak 25 mg dilarutkan dalam 25 mL metanol lalu diambil sebanyak 1 mL dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang sebelumnya telah terisi larutan DPPH 1 mM. Campuran larutan sampel dan DPPH 1 mM ditepatkan volumenya hingga 5 mL. Absorbans pada 515,5 nm diukur setelah larutan tersebut didiamkan selama 30 menit. Troloks dengan rentang nilai konsentrasi antara 2,5-100 M digunakan dalam membuat kurva kalibrasi dalam menentukan kapasitas antioksidan yang dinyatakan dalam $\mu\text{mol ET/g}$.

Aktivitas Antioksidan dengan Metode FRAP
Metode FRAP mengacu kepada Benzie & Strain (13). Pereaksi FRAP dibuat dengan mencampurkan bufer asetat 300 mM (pH 3,6), TPTZ 10 mM dalam 40 mM asam klorida dan 20 mM feri klorida enam hidrat dengan rasio 10:1:1. Sebanyak 25 mg ekstrak kering sampel dilarutkan dalam etanol lalu diambil 150 μL larutan sampel tersebut dan ditambahkan 4,5 mL pereaksi FRAP kemudian didiamkan selama 30 menit pada suhu 30°C dan setelahnya diukur absorbansnya pada 598 nm. Troloks dengan rentang nilai konsentrasi antara 25-300 M digunakan dalam membuat kurva kalibrasi dalam menentukan kapasitas antioksidan yang dinyatakan dalam $\mu\text{mol ET/g}$.

Penentuan Kadar Fenol Total

Metode penentuan kadar fenol total yang digunakan seperti yang dijabarkan oleh Slinkard & Singleton (14). Sebanyak 25 mg ekstrak kering sample dilarutkan dalam 25 ml etanol lalu diambil 0,1 mL larutan sampel yang kemudian ditambahkan 3,9 mL akuades dan 0,5 mL pereaksi Folin-Ciocalteu (FC) (1:10 dalam akuades). Larutan tersebut didiamkan selama 3 menit kemudian ditambahkan 2 ml Na_2CO_3 20% dan diukur absorbansnya pada 756,5 nm. Asam galat digunakan dalam membuat kurva kalibrasi untuk menentukan kadar fenol total. Kandungan fenol total dalam ekstrak etanol dinyatakan sebagai miligram ekuivalen asam galat/gram sampel (mg EAG/g).

Penentuan Kadar Flavonoid Total

Metode yang digunakan mengacu kepada metode yang digunakan oleh Pourmorad *et al.*, (15). Sebanyak 0,5 mL ekstrak yang telah diencerkan (1:10 g/mL etanol) ditambahkan dengan 1,5 mL etanol, 0,1 mL AlCl_3 10%, 0,1 mL natrium asetat 1 M, dan 2,8 mL akuades. Campuran larutan tersebut dibiarkan selama 30 menit, setelah itu diukur absorbansnya pada 417 nm. Kuersetin digunakan dalam membuat kurva kalibrasi untuk menentukan kadar flavonoid total. Kandungan flavonoid total dalam ekstrak etanol dinyatakan sebagai miligram ekuivalen kuersetin/gram sampel (mg EK/g).

Analisis Statistik

Data hasil analisis dinyatakan sebagai rerata \pm standar deviasi (SD) dari tiga ulangan pengukuran. Untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan yang signifikan diantara hasil yang diperoleh dilakukan dengan analisis varians (ANOVA) dan uji Duncan. Perbedaan yang signifikan didefinisikan pada taraf 5% ($p < 0,05$). Analisis statistika yang dilakukan menggunakan peranti lunak XLSTAT versi 2012.2.02 (Addinsoft, New York, Amerika Serikat).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Aktivitas Antioksidan

Metode CUPRAC, DPPH, dan FRAP telah digunakan dalam penelitian ini untuk menentukan aktivitas antioksidan dari 6 tumbuhan obat Indonesia yaitu jati belanda, kedaung, kumis kucing, sambiloto, sidaguri, dan tempuyung. Ketiga metode yang digunakan termasuk ke dalam tipe asai antioksidan yang memanfaatkan transfer elektron dalam reaksi kimianya. Metode CUPRAC digunakan dalam menentukan aktivitas antioksidan untuk tumbuhan obat yang diteliti karena memiliki beberapa keuntungan seperti selektif, pereaksinya yang lebih stabil dibandingkan pereaksi kromogenik pada metode pengukuran aktivitas antioksidan lainnya, dapat mengukur secara simultan antioksidan hidrofilik dan lipofilik (4). Metode ini menggunakan pereaksi kromogenik bis(neokuproin) tembaga(II) (Cu(II)(Nc)_2). Pereaksi ini pada pH 7 dengan adanya senyawa aktioksidan akan menghasilkan kelat Cu(I)(Nc)_2 yang berwarna kuning dengan absorpsi maksimum pada panjang gelombang 450 nm (16). Sedangkan

metode DPPH dipilih karena telah banyak digunakan dalam mengukur potensi aktivitas antioksidan secara *in vitro* pada sistem biologis (17). DPPH merupakan radikal organik yang stabil dengan warna ungu yang cukup kuat. Pengukuran aktivitas antioksidan dengan metode ini didasarkan kepada penangkapan radikal oleh antioksidan sehingga warna ungu dari radikal menjadi memudar (warna kuning). Dengan meningkatnya konsentrasi antioksidan maka aktivitas penangkapan radikal DPPH semakin besar sehingga dapat dianalogikan sebagai aktivitas antioksidan (18). Metode FRAP juga dilakukan walaupun saat awal dikembangkannya untuk pengukuran aktivitas antioksidan plasma, asai ini dapat digunakan untuk kuantifikasi kapasitas antioksidan pada bermacam sistem biologis mulai dari ekstrak hingga senyawa murni (19). Pada metode FRAP yang dikembangkan oleh Benzie & Strain (13), pengukuran dilakukan pada panjang gelombang maksimum kompleks Fe(II) dengan TPTZ sebagai hasil dari reduksi Fe(III)-(TPTZ)₂ oleh suatu antioksidan.

Aktivitas antioksidan dari 6 tumbuhan obat yang diuji dengan tiga asai antioksidan yang digunakan memiliki nilai yang bervariasi (Tabel 1). Kedaung memiliki potensi antioksidan tertinggi dengan nilai kapasitas antioksidannya sebesar 549,00 mol ET/g (CUPRAC), 450,55 µmol ET/g (DPPH), dan 90,16 µmol ET/g (FRAP). Urutan aktivitas antioksidan dari yang paling besar ke yang terkecil dengan metode CUPRAC dan FRAP yaitu kedaung > kumis kucing > jati belanda > tempuyung > sambiloto > sidaguri sedangkan untuk metode DPPH yaitu kedaung > kumis kucing > jati belanda > tempuyung > sidaguri > sambiloto. Nilai aktivitas antioksidan yang diperoleh untuk tiap sampel dengan tiga asai yang digunakan memberikan nilai yang berbeda secara signifikan kecuali antara sambiloto dan tempuyung dengan asai CUPRAC dan DPPH tidak memberikan perbedaan hasil yang signifikan. Hasil pengukuran aktivitas antioksidan menggunakan asai FRAP memberikan nilai yang lebih kecil dibandingkan dengan asai CUPRAC dan DPPH. Pengukuran aktivitas antioksidan dengan asai FRAP akan kurat apabila semua dan hanya senyawa antioksidan yang mereduksi Fe(III)(TPTZ)₂, memiliki laju reaksi cukup

cepat dan berjalan sempurna, dan antioksidan yang teroksidasi serta produk reaksi sekunder lainnya tidak memiliki serapan pada panjang gelombang maksimum Fe(II)(TPTZ)₂ (20). Pada kenyataannya kondisi ini sulit ditemui dan tidak realistis karena nilai potensial reduksi standar dari Fe (III)/Fe(II) adalah 0.77 V sehingga senyawa apapun dengan nilai potensial reduksi dibawah 0.77 V akan dapat mereduksi Fe(III) menjadi Fe(II) dan memberikan kontribusi pada pengukuran aktivitas antioksidan dengan asai FRAP. Selain itu, serapan panjang gelombang maksimum Fe(II)(TPTZ)₂ meningkat dengan lambat walaupun inkubasi dilakukan beberapa jam dalam mengukur aktivitas antioksidan beberapa senyawaan fenol seperti asam kafeat, asam tanat, asam ferulat, asam askorbat, kuersetin, Penyebab lainnya, senyawaan pengganggu dapat memiliki serapan absorbans maksimum pada daerah pengukuran FRAP. Hal ini berlaku untuk contoh bahan alam yang memiliki banyak senyawa pengganggu sehingga FRAP tidak terlalu cocok untuk diaplikasikan pada sampel bahan alam (4,20).

Kadar Fenol dan Flavonoid Total

Secara umum telah diketahui bahwa senyawa fenolik (fenol sederhana atau polifenol) berkorelasi tinggi dengan aktivitas antioksidan yang dimiliki oleh suatu ekstrak tumbuhan. Termasuk di dalam polifenol yaitu flavonoid, antosianin, dan tanin, sedangkan untuk fenol sederhana seperti asam fenolat. Adanya hidrogen fenol yang dapat menangkap radikal bebas menyebabkan mayoritas senyawa fenolik memiliki aktivitas antioksidan. Oleh karena itu penentuan kadarnya di dalam suatu ekstrak tumbuhan obat yang dievaluasi aktivitas antioksidannya perlu dilakukan. Selain itu juga, kadar fenol total juga dapat menggambarkan kapasitas antioksidan suatu sampel karena reaksi dari metode ini juga melibatkan transfer elektron.

Kadar fenol total dalam 6 tumbuhan obat yang diuji ditentukan menggunakan metode FC yang diekspresikan sebagai mg EAG/g. Hasil yang diperoleh bervariasi antara 4,93-57,27 mg EAG/g (Tabel I). Kedaung memiliki kadar fenol total yang paling tinggi diantara sampel yang dianalisis dengan urutan yang paling besar ke kecil adalah kedaung > kumis kucing > jati belanda > tempuyung > sambiloto > sidaguri.

Kadar flavonoid total seperti halnya fenol total juga bervariasi dengan kisaran kadar diantara 0,42-3.05 mg EK/g. Kadar tertinggi untuk flavonoid total dimiliki oleh jati belanda dan

urutan kadar dari yang paling besar ke kecil adalah jati belanda > kedaung > tempuyung > kumis kucing > sambiloto > sidaguri.

. Tabel I. Aktivitas antioksidan, kadar fenol total, dan kadar flavonoid total dari enam tumbuhan obat

Sampel	Aktivitas antioksidan ($\mu\text{mol ET/g}$) ¹			Kadar fenol total (mg EAG/g) ¹	Kadar flavonoid total (mg EK/g) ¹
	CUPRAC	DPPH	FRAP		
Jati belanda	194.93 \pm 1.11 ^c	126.57 \pm 3.18 ^c	14.36 \pm 0.13 ^c	20.22 \pm 0.06 ^c	3.05 \pm 0.01 ^a
Kedaung	549.00 \pm 8.97 ^a	450.55 \pm 3.04 ^a	90.16 \pm 0.97 ^a	57.27 \pm 2.00 ^a	2.08 \pm 0.02 ^b
Kumis kucing	209.50 \pm 0.55 ^b	192.33 \pm 2.94 ^b	23.73 \pm 0.35 ^b	24.53 \pm 0.11 ^b	0.66 \pm 0.02 ^d
Sambiloto	17.28 \pm 0.41 ^e	16.20 \pm 0.62 ^e	5.40 \pm 0.14 ^e	5.23 \pm 0.06 ^e	0.46 \pm 0.01 ^e
Sidaguri	11.89 \pm 0.13 ^c	17.94 \pm 0.09 ^e	3.85 \pm 0.02 ^f	4.93 \pm 0.05 ^c	0.42 \pm 0.01 ^e
Tempuyung	45.83 \pm 0.58 ^d	71.47 \pm 0.30 ^d	10.23 \pm 0.40 ^d	12.06 \pm 0.05 ^b	0.75 \pm 0.01 ^c

Keterangan:

¹rerata \pm standar deviasi dari 3 ulangan pengukuran

Untuk tiap pengukuran, data yang ditandai dengan huruf yang berbeda menandakan perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$)

Berdasarkan hasil di atas, urutan kadar flavonoid total tidak selalu mengikuti seperti halnya kadar fenol total. Hal ini dimungkinkan terjadi karena dalam penentuan fenol total, hampir semua senyawa golongan fenolik seperti flavonoid, tanin, antosianin, dan fenol sederhana akan terukur sehingga dapat saja flavonoid bukan penyumbang terbesar keberadaan senyawa fenolik. Sebagai contoh dari hasil yang diperoleh, kedaung memiliki kadar fenol total paling tinggi di antara sampel lainnya akan tetapi kadar flavonoid totalnya berada di bawah jati belanda yang kadar fenol totalnya lebih rendah di bandingkan kedaung.

Selain penjelasan di atas perbedaan tersebut dapat pula disebabkan oleh kodrat kimia dari metode yang digunakan. Senyawa fenolik bereaksi dengan asam fosfotungstat dan fosfomolibdat yang ada dalam pereaksi FC. Selain senyawa fenolik pereaksi FC dapat pula bereaksi dengan senyawa lainnya yang dapat dioksidasi sehingga asai ini tidak terlalu spesifik dan telah dilaporkan oleh beberapa peneliti sebelumnya (21,22). Sebagai tambahan pula, senyawa fenolik ternyata memiliki respon yang berbeda-beda terhadap pereaksi FC (22). Untuk flavonoid dengan menggunakan AlCl_3 sebagai pereaksi pewarna ternyata hanya senyawa yang termasuk flavon dan flavonol yang dapat bereaksi dengan AlCl_3 sedangkan untuk senyawa dalam kelas lainnya seperti flavanon dan flavanonol tidak dapat bereaksi dengan pereaksi tersebut (23). Oleh

karena itu kadar flavonoid total yang didapatkan adalah kontribusi dari sebagian kelas senyawa flavonoid.

Korelasi Aktivitas Antioksidan dengan Kadar Fenol dan Flavonoid Total

Seperti yang telah dijelaskan sebelumnya bahwa aktivitas antioksidan suatu tumbuhan dapat berkorelasi dengan kadar senyawa fenolik di dalamnya. Umumnya semakin tinggi kadar senyawa fenolik akan menyebabkan aktivitas antioksidan yang dimiliki juga semakin tinggi seperti yang telah dibuktikan oleh beberapa peneliti sebelumnya (19, 24). Terdapat pula peneliti lainnya (25) yang tidak menemukan hubungan linear antara kadar senyawa fenolik dengan aktivitas antioksidan. Korelasi antara kadar fenol dan flavonoid total terhadap aktivitas antioksidan terukur menggunakan metode CUPRAC, DPPH, dan FRAP memberikan nilai koefisien korelasi sebesar 0.995; 0.998; dan 0.978 (fenol total) dan 0,589; 0,495; dan 0,430 (flavonoid total) secara berurutan.

Berdasarkan hasil yang diperoleh dapat diketahui bahwa kadar senyawa fenolik berperan dalam menentukan besarnya aktivitas antioksidan dan juga tidak hanya flavonoid saja yang memberikan kontribusi dalam kapasitas antioksidan 6 tumbuhan tersebut. Walaupun demikian, perlu diingat bahwa adanya korelasi antara aktivitas antioksidan dengan kadar fenol total dapat saja dihasilkan oleh adanya galat yang ada saat menggunakan asai untuk menentukan aktivitas maupun kadar seperti yang telah dijelaskan sebelumnya.

Selain itu pula telah diketahui bahwa aktivitas antioksidan suatu ekstrak tumbuhan tidak hanya terbatas pada senyawa fenolik saja. Oleh karena itu, tidak ada hubungan yang sederhana antara kadar fenol dan flavonoid total ketika membandingkan aktivitas antioksidan antar ekstrak tumbuhan (7).

KESIMPULAN

Ekstrak etanol 70% dari 6 tumbuhan obat Indonesia yang diteliti yaitu jati belanda, kedaung, kumis kucing, sambiloto, sidaguri, dan tempuyung diketahui memiliki aktivitas antioksidan yang diukur menggunakan metode CUPRAC, DPPH, dan FRAP. Aktivitas antioksidan terukur yang paling besar yaitu kedaung, demikian pula untuk kadar fenol totalnya. Kadar flavonoid total terbesar dimiliki oleh jati belanda. Kadar fenol **total memiliki** korelasi dengan aktivitas antioksidan yang terukur dari tiga metode yang digunakan, sedangkan untuk flavonoid total flavonoid tidak memiliki korelasi dengan aktivitas antioksidan yang menandakan bahwa aktivitas antioksidan tidak hanya bersumber dari senyawa golongan flavonoid.

DAFTAR ACUAN

- Gutteridge JMC, Halliwell B. 2000. Free radicals and antioxidants in the year 2000: A historical look to the future. *Annals of the New York Academy of Sciences* 899: 136-147.
- Muramatsu H, Kogawa K, Tanaka M, Okumura K, Koike K, Kuga T. 1995. Superoxide dismutase in SAS human tongue carcinoma cell line is a factor defining invasiveness and cell motility. *Cancer Research* 55: 6210-6214.
- Steinberg D, Parthasarathy S, Carew TE, Khoo JC, Witztum JL. 1989. Beyond cholesterol: modifications of low-density lipoprotein that increase its atherogenicity. *New England Journal of Medicine* 320: 915-924.
- Apak R, Guclu K, Demirata B, Ozyurek M, Celik SE, Bektasoglu B, Berker KI, Ozyurt D. 2007. Comparative evaluation of various total antioxidant capacity assays applied to phenolic compounds with the CUPRAC assay. *Molecules* 12: 1496-1547.
- Kaneria M, Baravalia Y, Vaghasiya Y, Chanda S. 2009. Determination of antibacterial and antioxidant potential of some medicinal plants from Saurashtra Region, India. *Indian Journal of Pharmaceutical Science* 71: 406-412.
- Seal T. 2011. Evaluation of antioxidant activity of some wild edible fruits of Meghalaya state in India. *International Journal Pharmacy and Pharmaceutical Science* 3: 233-236.
- Akowuah GA, Ismail Z, Norhayati I, Sadikun A, Khamsah SM. 2004. Sinensetin, eupatorin, 3'-hydroxy-5,6,7,4'-tetramethoxyflavone and rosmarinic acid contents and antioxidative effect of *Orthosipon stamineus* from Malaysia. *Food Chemistry*, 87, 559-566.
- Rafat A, Philip K, Muniandy S. 2010. Antioxidant potential and content of phenolic compounds in ethanolic extracts of selected parts of *Andrographis paniculata*. *Journal of Medicinal Plants Research* 4: 197-202.
- Dhalwal K, Desphande YS, Purohit AP. 2007. Evaluation of in vitro antioxidant activity of *Sida rhombifolia* (L.) ssp. retusa (L.). *Journal of Medicinal Food* 10: 683-688.
- Chairul SM, Sumarny R, Chairul. 2003. Aktivitas antioksidan ekstrak air daun tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) secara in-vitro. *Majalah Farmasi Indonesia* 14: 208-215.
- Apak R, Guclu K, Ozyurek M, Karademir SE. 2004. Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52: 7970-7981.
- Hanani E, Mun'im A, Sekarini R. 2005. Identifikasi senyawa antioksidan dalam spons *Callispongia* sp dari Kepulauan Seribu. *Majalah Ilmu Kefarmasian* 2: 127-133.
- Benzie IFF, Strain JJ. 1996. The ferric reducing ability of plasma as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Analytical Biochemistry* 239: 70-76.
- Slinkard K, Singelton VL. 1977. Total phenol analysis: automation and comparison with manual methods. *American Journal of Enology and Viticulture* 28: 49-55

15. Pourmorad F, Hosseinimehr SJ, Shahabimajd N. 2006. Antioxidant activity, phenol, and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants. *African Journal of Biotechnology* 5: 1142-1145.
16. Apak R, Guclu K, Ozyurek M, Celik SE. 2008. Mechanism of antioxidant capacity assays and the CUPRAC (cupric ion reducing antioxidant capacity) assay., *Microchimica Acta* 160: 413-419.
17. Zhou K, Yu L. 2004. Effects of extraction solvent on the wheat bran antioxidant activity estimation. *LWT-Food Science and Technology* 37: 717-721.
18. Sanchez-Moreno C, Larrauri JA, Saura-Calixto F. 1999. Free radical scavenging capacity and inhibition of lipid oxidation of wines, grape juices and related polyphenolic constituents. *Food Research International* 32: 407-412.
19. Katalinic V, Milos M, Kulisic T, Jukic M. 2006. Screening of 70 medicinal plants extracts for antioxidant capacity and total phenolics. *Food Chemistry* 94: 550-557.
20. Ou B, Huang D, Hampsch-Woodill M, Flanagan JA, Deemer EK. 2002. Analysis of antioxidant activities of common vegetables employing oxygen radical absorbance capacity (ORAC) and ferric reducing antioxidant power (FRAP) assays: A comparative study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50: 3122-3128.
21. Escarpa A, Gonzalez M. 2001. Approach to the content of total extractable phenolic compounds from different food samples by comparison of chromatographic and spectrophotometric methods. *Analytica Chimica Acta* 427: 119-127.
22. Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventos RM. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods Enzymology* 299: 152-178.
23. Chang, CC, Yang MH, Wen HM, Chern JC. 2002. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food Drug Analysis*. 10: 178-182.
24. Silva EM, Souza JNS, Rogez H, Rees JF, Larondelle Y. 2007. Antioxidant activities and polyphenolic contents of fifteen selected plant species from the Amazonian region. *Food Chemistry* 101: 1012-1018.
25. Ou B, Huang D, Hampsch-Woodill M, Flanagan JA. 2003. When the east meets west: The relation yin-yang and antioxidation-oxidation. *The FASEB Journal* 17: 127-129.