

PENETAPAN KADAR SENYAWA FENOLAT TOTAL DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK DAUN, BUAH DAN BIJI BIDARA (*ZIZIPHUS SPINA-CHRISTI* L.)

¹R. Herni Kusriani, ²As'ari Nawawi, ³Eko Machter

^{1,2,3}*Sekolah Tinggi Farmasi Bandung, Jl. Soekarno Hatta No.754 Bandung*

e-mail: ¹herni.kusriani@gmail.com, ²asarinawawi@yahoo.com ³machtereke2552@gmail.com

Abstrak. Bidara (*Ziziphus spina-christi* L.) merupakan salah satu tanaman yang sangat jarang dijumpai khususnya di Indonesia. Bidara adalah pohon penghasil buah yang tumbuh di daerah Afrika Utara dan Tropis serta Asia Barat. Masih banyak sebagian masyarakat yang belum mengenal tanaman bidara khususnya khasiat dan kandungan kimianya. Kandungan kimia yang terdapat pada tanaman bidara antara lain alkaloid, flavonoid, polifenol, tanin, dan terpenoid. Senyawa fenol dan flavonoid berpengaruh terhadap aktivitas antioksidan. Antioksidan memiliki peranan penting dalam mencegah penyakit degeneratif. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan dari daun, buah dan biji dan penetapan kadar senyawa fenolat. Uji aktivitas antioksidan dilakukan menggunakan metode peredaman radikal bebas 1,1 Difenil-1-Pikrihidrazil (DPPH). Penetapan kadar fenolat total dianalisis menggunakan reagen Folin Ciocalteu. Hasil yang didapat dalam penelitian ini bahwa ekstrak daun, buah dan biji memiliki kadar fenolat total berturut-turut $7,192\% \pm 0,0198$, $5,115\% \pm 0,0052$, dan $11,409\% \pm 0,0195$. Aktivitas antioksidan dari ekstrak daun, buah, dan biji dengan nilai IC50 berturut-turut 127,87 ppm, 315,09 ppm, dan 205,85 ppm.

Kata kunci: Bidara (*Ziziphus spina-christi*), kadar fenol, kadar flavonoid, aktivitas antioksidan

1. Pendahuluan

Keanekaragaman hayati yang ada di bumi ini bukan hanya digunakan sebagai bahan pangan atau dinikmati keindahannya melainkan sebagai bahan untuk pengobatan. Khususnya Indonesia yang kaya akan berbagai jenis flora yang secara empiris banyak dimanfaatkan sebagai obat. Dari sekian banyak tanaman di Indonesia salah satunya tanaman yang berpotensi untuk pengobatan adalah bidara (*Ziziphus spina-christi* L.) Bidara adalah sejenis pohon kecil yang selalu hijau, penghasil buah yang tumbuh di daerah afrika utara dan tropis serta Asia Barat, Tumbuh di Israel di lembah lembah sampai ketinggian 500 m. Khususnya di Indonesia tanaman ini banyak tumbuh di Sumbawa (Nusata Tenggara Barat) (Anonim b,c,d. Heyne, 1987; Zohary, 1972). Bidara banyak digunakan dalam pengobatan tradisional antara lain semua bagiannya (daun, buah, biji, akar, dan batang). Seperti yang dijelaskan dalam penelitian sebelumnya kandungan kimia yang berperan sebagai pengobatan dalam tanaman bidara antara lain alkaloid, fenol, flavonoid, kuercetin, rutin, dan terpenoid.(Adzu dkk., 2001; Adzu dkk., 2007; Hussein dkk., 2010; Michel dkk., 2011; Hadizadeh dkk., 2009). Tanaman bidara (*Ziziphus spina-christi* L.) memiliki kandungan fenolat dan flavonoid yang kaya akan manfaat. Senyawa fenolat adalah senyawa yang mempunyai sebuah cincin aromatik dengan satu atau lebih gugus hidroksi, senyawa

fenol meliputi aneka ragam senyawa yang berasal dari tumbuhan yang memiliki ciri sama, yaitu cincin aromatik yang mengandung satu atau lebih gugus hidroksil (Harbon, 1987). Dalam tubuh senyawa fenolat kaya akan manfaat biologis antara lain antioksidan, antiinflamasi, antimikrob, antifungi dan mencegah timbulnya tumor (Prior, 2003).

Saat ini banyak sekali penelitian yang dilakukan terhadap senyawa antioksidan dari bahan alam. Antioksidan merupakan senyawa yang penting dalam menjaga kesehatan tubuh karena berfungsi memutus reaksi berantai dari radikal bebas yang terdapat dalam tubuh (Pratiwi, 2010). Radikal bebas pada dasarnya diproduksi oleh tubuh ketika mengatasi infeksi dan saat berolahraga atau bernapas, tetapi tubuh memiliki mekanisme pertahanan terhadap produksi radikal bebas tersebut. Radikal bebas umumnya diproduksi oleh polusi, petisida, radiasi, asap rokok, sinar matahari, dan asap kendaraan. Akumulasi radikal bebas dari lingkungan akhirnya menimbulkan kerusakan didalam tubuh dan dapat menyebabkan berbagai penyakit degeneratif serta tanda-tanda penuaan. Radikal bebas bersifat reaktif dan berbahaya jika di dalam tubuh jumlahnya berlebih maka perlu adanya asupan antioksidan dari luar (Winarsi, 2007). Sumber antioksidan alami didominasi oleh tumbuhan dan umumnya mengandung senyawa fenolat dan flavonoid yang tersebar di dalam tumbuhan. Senyawa ini berperan sebagai antioksidan dengan cara menghambat terbentuknya radikal bebas dengan mendonasikan atom hidrogenya atau melalui kemampuan melakap logam berada dalam bentuk glukosida (mengandung rantai samping glukosa) atau dalam bentuk bebas yang disebut aglikon (Abdi Redha, 2010). Salah satu sumber antioksidan alami adalah sayuran dan buah-buahan segar yang umumnya memiliki senyawa fenol, flavonoid, bioflavonoid, vitamin C, vitamin E, kuersetin, dan β -karoten (Winarsi, 2007 dan Martasari, 2008).

Penelitian ini bertujuan menetapkan kadar senyawa fenolat total menggunakan reagen *Folin Ciocalteu* dan aktivitas antioksidan secara kualitatif dan kuantitatif menggunakan metode 1,1Difenil-1-Pikrihidrazil (DPPH) dari tiga bagian tanaman bidara yaitu daun, buah, dan biji.

2. Metode Penelitian

Pada penyiapan bahan simplisia daun, buah, dan biji bidara diperoleh dari Provinsi Sumbawa (Nusa Tenggara Barat). Berdasarkan data determinasi yang dilakukan di Herbarium Jatinangor, Laboratorium Taksonomi Tumbuhan Jurusan Biologi FMIPA Universitas Padjadara Jatinangor, diperoleh informasi bahwa tanaman uji yang digunakan merupakan tanaman bidara dengan nama latin (*Ziziphus spina-christi* L.).



Gambar 1. Daun Bidara



Gambar 2. Buah Bidara



Gambar 3. Biji Bidara

Penapisan fitokimia adalah pemeriksaan yang dilakukan sebagai skrining awal untuk mengetahui golongan senyawa yang terdapat dalam daun, buah, dan biji bidara (*Ziziphus spina-christi*). Penapisan fitokimia ini meliputi pemeriksaan alkaloid, flavonoid, saponin, kuinon, tanin dan stroid/triterpenoid.

Ekstraksi daun, buah, dan biji bidara dilakukan dengan metode maserasi, menggunakan pelarut etanol. Rendemen ekstrak daun yang didapat 4,62 %, ekstrak buah 5,76 %, sedangkan ekstrak biji sebesar 2,49 %.

Pada pengujian secara kualitatif dilakukan dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dengan fase diam silika gel GF₂₅₄ pra salut. Penampak bercak yang di gunakan yaitu DPPH 0,2%, AlCl₃ 5%, FeCl₃ 10% dan H₂SO₄ 10%.

Teknik penetapan kadar fenolat total adalah menggunakan reagen Folin Ciocalteu yang dilarutkan dalam aquades (1:10). Sebanyak 0,5 mL sampel ekstrak dari larutan induk ditambahkan 5 mL reagen Folin Ciocalteu inkubasi 5 menit, kemudian larutan tersebut ditambahkan Na₂CO₃ 1 M dan inkubasi selama 15 menit, kemudian ukur absorbansinya pada panjang gelombang 765 nm.

3. Hasil dan Pembahasan

3.1. Penapisan Fitokimia

Hasil dari penapisan fitokimia ini meliputi terdapat pada Tabel 1.

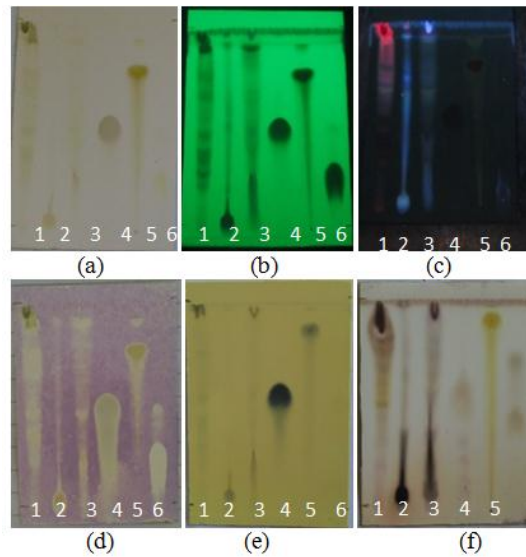
Tabel 1 Hasil Pemeriksaan Penapisan Fitokimia

Penapisan Fitokimia	Daun	Buah	Biji
Alkaloid	+	+	-
Flavonoid	+	+	+
Saponin	+	+	-
Tanin	+	+	+
Kuinon	+	+	+
Steroid/Triterpenoid	+	+	-

Keterangan : (+) positif sedang mengandung senyawa yang di uji.
 (-) negatif tidak mengandung senyawa yang di uji.

3.2. Pengujian secara kualitatif

Pengujian secara kualitatif dilakukan dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Dari hasil pengujian dengan pengembang polar setelah di semprot penampak bercak DPPH 0,2 % dalam metanol. Hasil menunjukkan bahwa ekstrak daun, buah dan biji menunjukkan adanya senyawa antioksidan dengan ditandai munculnya intensitas warna (bercak) warna kuning dengan latar berwarna ungu namun jika di lihat dari intensitas warna (bercak) yang paling kuat antioksidan di tunjukan pada ekstrak daun dan biji. Dengan penampak bercak FeCl₃ 10 % menunjukan hasil positif dengan munculnya warna hitam pada ekstrak daun, buah dan biji. Dari hasil dapat di simpulkan bahwa senyawa fenolat memiliki peran sebagai antioksidan terdistribusi dalam pengembang polar.

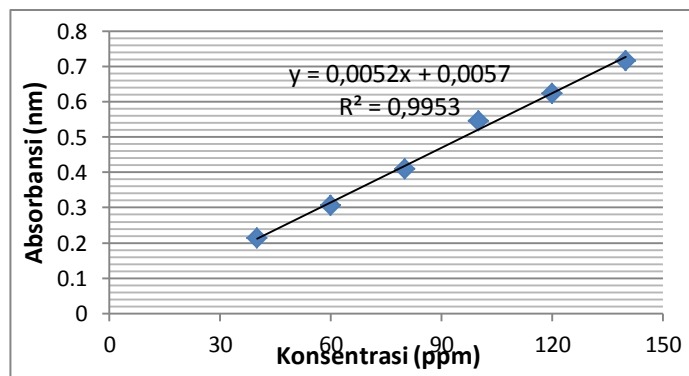


Gambar 4 Hasil Pengujian secara Kualitatif dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Keterangan: Fase diam Silika Gel GF₂₅₄ pra salut, (1) ekstrak daun; (2) ekstrak buah; (3) ekstrak biji; (4) asam galat; (5) *quercetin*; (6) vit-c. Fase gerak (kloroform 9:3 metanol:1 air). (a); visual, (b); Sinar UV λ 254, (c); Sinar UV λ 356, (d); DPPH 0,2%, (e); penampak bercak FeCl₃ 10%, (f); penampak bercak H₂SO₄ 10%.

3.3. Penetapan kadar Senyawa Fenolat Total

Dari hasil kurva kalibrasi yang didapat diperoleh persamaan regresi linier ($y=bx+a$), $a = 0,0057$, $b = 0,0052$ dan kuadrat koefisien relasinya (r^2) = 0,9953. Setelah kurva kalibrasi asam galat diperoleh selanjutnya dilakukan pengukuran terhadap ke tiga sampel ekstrak uji diantaranya daun, buah dan biji bidara.



Gambar 5 Kurva Kalibrasi Standar Asam Galat

Tabel 2 Penetapan Kadar Fenol Total Ekstrak Bidara

No	Ekstrak	Absorban (nm)	Eqivalen ($\mu\text{g/mL}$)	mL	% Kadar
1	Daun (1500 ppm)	0,565	107,5576	10	7,1705
		0,568	108,1346	10	7,2089

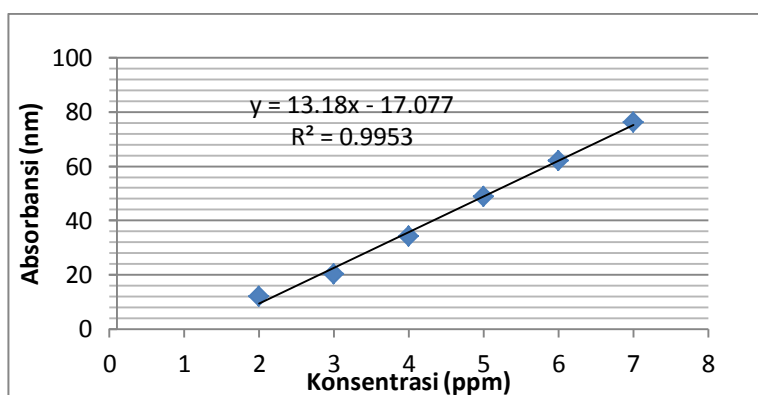
		0,567	107,9423	10	7,1961
		Rata-rata			7,192 % ± 0,0198
2	Buah (3000 ppm)	Absorban (nm)	Eqivalen (µg/mL)	mL	% Kadar
		0,576	109,6730	10	5,118
		0,575	109,4807	10	5,1091
		0,567	109,6730	10	5,1180
		Rata-rata			5,115 % ± 0,0052
3	Ekstrak Biji (1000 ppm)	Absorban (nm)	Eqivalen (µg/mL)	mL	% Kadar
		0,598	113,9038	10	11,3903
		0,599	114,0961	10	11,4098
		0,600	114,3884	10	11,4269
		Rata-rata			11,409 % ± 0,0195

3.4. Aktivitas Antioksidan

Pengujian aktivitas antioksidan metode 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH).

Pengujian aktivitas antioksidan standar vitamin C

Pengujian aktivitas antioksidan pada standar vitamin C menggunakan metode 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH).



Gambar 6 Kurva Pengujian Standar Vit-C

Tabel 3 Data Hasil Pengujian Aktivitas Antioksidan Standar Vit-C

No	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi (nm)	% Inhibisi
1	2	0,715	11,878
2	3	0,646	20,345
3	4	0,534	34,155
4	5	0,415	48,788
5	6	0,308	62,022
6	7	0,193	76,202

Keterangan: spektrum serapan 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil 60 ppm dalam metanol, panjang gelombang maksimal 516 nm.

Dari data di atas didapat persamaan $a = 17,007$, $b = 13,18$ dan kuadrat koefesien relatif $r^2 = 0,9953$. Dari persamaan diatas dapat nilai IC_{50} dengan rumus $(x=y-a/b)$ dimana $x = IC_{50}$ $y = 50$ "a" dan "b" persamaan regresi linier antara konsentrasi dengan % inhibisi. Dari hasil perhitungan di atas di dapat IC_{50} standar vitamin c adalah 5,083 ppm.

Pengujian aktivitas antioksidan ekstrak daun, buah dan biji bidara

Pengujian aktivitas antioksidan dari ekstrak daun, buah dan biji bidara dilakukan secara kuantitatif menggunakan metode 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH), langkah pertama pembuatan larutan induk sampel ekstrak kemudian dibuat seri konsentrasi, masing-masing tambahkan DPPH di tempat gelap, kemudian inkubasi selama 30 menit, setelah itu ukur absorbannya pada panjang gelombang DPPH.

Tabel 4 Data Hasil Perbandingan Pengujian Ekstrak Daun, Buah, Dan Biji Bidara

Ekstrak	IC50 (ppm)
Daun	127,87
Buah	315,09
Biji	205,85

Dari hasil pengujian aktivitas antioksidan yang di dapat bahwa ekstrak yang memiliki aktivitas antioksidan paling baik adalah ekstrak daun bidara dengan nilai $IC_{50} = 127,87$ ppm sedangkan ekstrak buah dengan nilai $IC_{50} = 315,09$ ppm dan ekstrak biji dengan nilai $IC_{50} = 205,85$ menunjukkan aktivitas sangat lemah karena > 200 ppm.

Tabel 5 Data Hasil Penetapan Kadar Fenol dan Antioksidan

No	Ekstrak	Kadar Fenol Total (%)	Antioksidan (IC50)
1	Daun	7,192% \pm 0,0198	127,87 ppm
2	Buah	5,115% \pm 0,0052	315,09 ppm
3	Biji	11,409% \pm 0,0195	205,85 ppm

4. Simpulan dan Saran

4.1. Simpulan

- Hasil penetapan kadar fenol total pada ekstrak daun, ekstrak buah dan ekstrak biji secara berurut-turut adalah 7,192% \pm 0,0198; 5,115% \pm 0,0052; dan 11,409% \pm 0,0195.
- Nilai IC_{50} pada aktivitas antioksidan dari ekstrak daun, ekstrak buah dan ekstrak biji adalah 127,87 ppm, 315,09 ppm, dan 205,85 ppm.
- Ekstrak yang memiliki kandungan fenol paling tinggi adalah ekstrak biji dengan kadar 11,409% \pm 0,0195. Ekstrak yang memiliki aktivitas antioksidan paling baik adalah ekstrak daun dengan hasil $IC_{50} = 127,87$ ppm.

3.2. Saran

Perlu dilakukannya analisis lebih lanjut mengenai isolasi senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan agar dapat diketahui golongan flavonoid jenis apa yang berperan sebagai antioksidan.

Daftar Pustaka

- Abalaka ME, Mann A, Adeyemo SO. Studies In-Vitro Antioxidant And Free Radical Scavenging Potensial And Phytochemical Screening of Leaves of *Ziziphus mauritiana* L. And *Ziziphus spina-christi* L. With Asorbic Acid. *Journal of Medical Genetik And Genomics*. 2011; 3(2); 28-34.
- Adzu B, Amos S, Wambebe, Gamaniel K. Antinociceptive activity of *Ziziphus spina-christi* L root bark extract. *Fitoterapia*. 2001; 72 (4); 344-50.
- Adzu B, Haruna KA. Studi on the use of *Ziziphus spina-christi* L againt pain in rats and mice. *African Journal Of Biotechnology*. 2007; 6 (11); 1317-24
- Chang C, Yang M, Wen, Hm Chem J. Estimation Of total Flavonoid Content in Propolis by Two Complementary Colorimetric Methods, *Journal Of Food Drud Analysis*. 2002: 10 (3), 179-80.
- D Dahiru, End OO. Evaluation of The Antioksidan Effects of *Ziziphus mauritiana* Lam. Leaf Extracts againt Chronic Ethanol- Induced Hepatotoxicity In Rat Liver. *African Journal Traditional Complementary Alternative Mediines (CAM)*. 2008: 5 (1); 39-45.
- Farnsworth NR. Biological and Phytochemical Screening of Plant. *Journal of Pharmaceutical Sciences*; 1996: 55(3), 226-76.
- Fessenden RJ, Fessenden JS. *Kimia Organik*. Cetakan ketiga. Pudjaatmaka AH, penerjemah. Bandung: ITB. Terjemahan dari: *Organic chemistry*, third edition; 1986.
- Ghasemi K, Ghasemi Y, Ebrahimzadeh M. Antioxzidant Activity, Phenol and Flavonoid Contents of 13 Citrus Species Peels and Tissues. *Pak. J. Pharm. Sci*. 2009: 22 (3); 277-81.
- Grice AC. Ekologi Dalam Pengelolaan India jujube (*Ziziphus mauritiana*). *Weed Sci*. 46: 1998; 467-474
- Hadizadeh I, Peivastegan B, Kolahi M. Antifungal activiti of nettle (*Urtica dioica* L), colocynt (*Citrullus colocynthis* L. Schrad), oleasnde (*Nerium oleander* L.) and konar (*Ziziphus spina-christi* L.) extracts on plant pathogenic fungi. *Pakistan Journal of Biological Sciences : PJBS* 2009: 12 (1) ; 58-63.
- Harbone JB. *Metode Fitokimia Terbitan Kedua*. Bandung: Penerbit ITB; 1987
- Hussein MH, El-Sayed ME, Said AA. Antihyperglycemic, Anthyperlipidemic and antioxidant effects of *Ziziphus spina-christi* L. And *Ziziphus jujuba* in alloxan rats. 2010 <http://dhl.handle.net/123456789/9738>.
- Heyne K. *Tumbuhan Berguna Indonesia*, jil. 3: 1270. Yay. Sarana Wana Jaya, Jakarta. 1987 (sebagai *Ziziphus Jujuba* Lamk.)
- Hyde MA, Wursten BT, Ballings P, Coates Palgrave M. *Flora of Zimbabwe: Species Information: Ziziphus mauritiana*. [Diakses Pada 25/11/2014] http://www.zimbabweflora.co.zw/speciesdata/species.php?species_id=137650, retrieved
- Latiff AM.. *Ziziphus mauritiana* Lamk. In: Verheij, E.W.M. and Coronel, R.E. (Editors). *Plant Resources of South-East Asia No. 2: Edible fruits and nuts*. Pudoc, Wageningen, The Netherlands. 1991; 310-12
- Marliani L, Kusriani H, Sari Ni. Aktivitas Antioksidan Daun Dan Buah Jamblang (*Syzigium Cumini* L.) 2014 Skeel. Issn 2089-3582, Eissn 2303-2480 Vol 4, No.1
- Michel GC, Nasseem ID, Ismail F. Antidiabetik activiti and stability study of the formulated leaf extract of *Ziziphus spina-christi* (L) Will with the influence of seasonal variation. *Journal of Ethnopharmacology*. 2011: 133 (1); 53-62.

- Molyneux P. The use of stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioksidan activity. *Songklanakarin J Sci Technol*. 2004; 26(2); 211-19.
- Pratiwi P, Meiny S, dan Bambang C. Total Fenolat Dan Flavonoid Dari ekstrak Dan Fraksi Daun Kumis Kucing (*Orthosiphon stamineus* B.) Jawa Tengah Serta Aktivitas Antioksidannya. *Jurnal Sains & Matematika (JSM)*. 2010; 18 (4) ISSN 0854-1675; 140-8.
- Pratt DE, Hudson B. Natural Antioxidant Not Exploited Commercially. Di dalam: B. J. Hudson. *Food Antioxidant*. London: Elsevier Applied Science; 1990.
- Prior R L. Fruit and vegetable in The Prevention of Cellular Oxidative Damage. *Am J Clin Nutr*; 2003; 78, 570
- Ratnawulan N, Gusnedi. Analisis Nilai Absorbansi dalam Penentuan Kadar Flavonoid Untuk Berbagai Jenis Daun Tanaman Obat. *Pillar Of Physics*. 2013; 2; 76-83.
- Redha A. Flavonoid : Struktur, Sifat Antioksidatif Dan Peranannya Dalam Sistem Biologis. *197 Jurnal Bellian*. 2010; 9 (2) ; 197-202.
- Rohman A, Riyanto S, Utari D. Aktivitas Antioksidan, Kandungan Fenolat Total, dan Kandungan Flavonoid total Ekstrak Etil Asetat Buah Mengkudu serta Fraksi-Fraksinya. *Majalah Farmasi Indonesia*. 2006; 17; 137-8.
- Samirana PO. Isolasi Identifikasi Senyawa Penangkal Radikal 2,2-Difenil-1-Pikrihidrazil Dari Kulit Batang Bidara (*Ziziphus mauritiana* Auct. Non Lamk.): Disertasi. Program Studi Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta; 2014
- Singleton VL, Rossi JA. Colorimetry of Total Phenolic with Phosphomolibdyc-Phosphotungstic Acid Reagent. *Am, J. End Vitic*. 1965; 16; 147.
- Suzie Z, Adrien , Guillaume C, Didier M-A-M, Sylvie R, Dominique P, Hiol Abel. "Changes In Antioxidant Activity During The Ripening of Jujube (*Ziziphus mauritiana* Lamk)". *Food Chemistry*. 2014; 150; 448-56.
- Talukdar MdI, Rahman SkS, Akhtaruzzaman M, Samad MdA. A Comparative Study on the Nutritional Quality Of 5 (Five) Varieties of Bangladeshi Jujubes (*Ziziphus mauritiana*). *American journal of Nutrition and Food Science*. *AJNFS*. 2014; 1(2); 32-6
- Winarsi, Hery. *Buku Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Yogyakarta: Penerbit Kanisius; 2007. hal 21 dan 79-81.
- Zohary M. *Flora Palestina*. II. Jerusalem: The Israel Academy of Science and Humanities; 1972 pp. 307-308 cited in Amots Dafni, Shay Levy, and Efraim Lev. The ethnobotany of Christ's Thorn Jujube (*Ziziphus spina-cheristi* L.) in Israel, PMC 1277088, PMID 16270941.