

Penentuan Kandungan Fenolik Total Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix*) dan Daun Kelor (*Moringa oleifera* L.)

Determination of Total Phenolic Content in Combination Ethanol Extracts of Kaffir Lime Leaves (*Citrus hystrix*) and Moringa Leaves (*Moringa oleifera* L.)

Fadilah Qonitah*, Reni Ariastuti, Jihan Aulia Kusumasari

Program Studi Farmasi, Fakultas Sains Teknologi dan Kesehatan, Universitas Sahid Surakarta, Surakarta, Indonesia

*Email Korespondensi: fadilahqonitah12@gmail.com, fadilahqonitah@usahidsolo.ac.id

Abstrak

Daun jeruk purut dan daun kelor diketahui mengandung senyawa fenolik yang dapat berpotensi sebagai antioksidan. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui kandungan fenolik total dari kombinasi ekstrak etanol daun jeruk purut (EJ) dan daun kelor (EK). Penyiapan ekstrak dilakukan dengan metode maserasi menggunakan etanol 96%. Penentuan kandungan fenolik total dengan metode kolorimetri menggunakan reagen Folin-Ciocalteu dan asam galat sebagai standar. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kandungan fenolik total terbesar pada kombinasi ekstrak EJ:EK (1:0) sebesar $3,58 \pm 0,09$ %EAG sedangkan kandungan fenolik terkecil pada kombinasi ekstrak EJ:EK (0:1) sebesar $1,32 \pm 0,08$ %EAG.

Kata Kunci: daun jeruk purut, daun kelor, total fenolik

Abstract

Kaffir lime leaves and moringa leaves are known to contain phenolic compounds that can have potential as antioxidants. The purpose of this study was to determine the total phenolic content of the combination of ethanol extracts of kaffir lime leaves and moringa leaves. Preparation of extracts was done by maceration method using 95% ethanol. Determination of total phenolic content by colorimetric method using Folin-Ciocalteu reagent and gallic acid as standard. The results showed that the largest total phenolic content in the combination of EJ:EK extract (1:0) was 3.58 ± 0.09 %EAG while the smallest phenolic content in the combination of J:K extract (0:1) was 1.32 ± 0.08 %EAG.

Keywords: kaffir lime leaves, moringa leaves, total phenolics

Received: 08 September 2023

Accepted: 25 October 2023

DOI: <https://doi.org/10.25026/jsk.v5i5.2046>



Copyright (c) 2023, Jurnal Sains dan Kesehatan (J. Sains Kes.).
Published by Faculty of Pharmacy, University of Mulawarman, Samarinda, Indonesia.
This is an Open Access article under the CC-BY-NC License.

How to Cite:

Qonitah, F., Ariastuti, R., Kusumasari, J. A., 2023. Penentuan Kandungan Fenolik Total Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix*) dan Daun Kelor (*Moringa oleifera* L.). *J. Sains Kes.*, 5(5). 823-828.
DOI: <https://doi.org/10.25026/jsk.v5i5.2046>

1 Pendahuluan

Berbagai macam tanaman obat tumbuh subur di Indonesia. Kekayaan alam yang dimiliki Indonesia berupa tanaman obat tersebut dapat bermanfaat bagi kesehatan masyarakat Indonesia [1]. Tanaman yang dapat berpotensi sebagai tanaman obat diantaranya tanaman kelor (*Moringa oleifera*) dan jeruk purut (*Citrus hystrix*). Tanaman kelor merupakan tanaman yang kaya akan nutrisi karena mengandung senyawa-senyawa seperti asam amino esensial, mineral, vitamin, β -karoten, quersetin dan antioksidan [2]. Kelor sering digunakan sebagai obat karena mempunyai aktivitas antibakteri, antioksidan, efek fotoprotektif dan antidiabetes. Daun kelor mengandung asam fenolat, flavonoid, glukosinolat dan isotiosianat. Senyawa fenolik dan flavonoid dapat berfungsi sebagai filter UV [3]. Daun kelor mengandung senyawa fenol yang dapat berfungsi sebagai penangkal radikal bebas [4]. Berdasarkan penelitian [5], yang melaporkan bahwa ekstrak etanol daun kelor mengandung total fenol sebesar 745,1735 mg ekuivalen asam galat/gram sampel [5].

Tanaman daun jeruk purut mengandung alkaloid polifenol, α -tokoferol, minyak atsiri, tannin, steroid triterpenoid, sitronellal, flavanoid sianidin, myricetin, peonidin, quercetin, luteolin, hesperetin, apigenin, dan isorhamnetin. Senyawa-senyawa ini bertindak aktif dalam aktivitas antioksidan dan tabir surya

terutama senyawa flavonoid [6]. Penelitian [7] melaporkan bahwa ekstrak etanol daun jeruk mengandung fenolik total sebesar $4,01 \pm 0,13\%$ EAG [7]. Senyawa-senyawa fenol yang terkandung dalam dua tanaman tersebut dapat berperan dalam penangkal radikal bebas. Mengingat peran penting senyawa fenol yang dapat berfungsi sebagai antioksidan maka dalam penelitian ini mencoba menentukan kandungan fenolik total dari kombinasi ekstrak etanol daun jeruk purut dan daun kelor.

2 Metode Penelitian

2.1 Alat dan Bahan Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya alat-alat gelas (pyrex®), neraca analitik (ohaus), penangas air (Memmert WNB 10®), mikropipet (Dragon Med), spektrofotometer UV-Visible (Genesys).

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah simplisia daun jeruk purut, simplisia daun kelor, etanol 96% teknis, etanol Pa (Merck), aquades, natrium karbonat (Na_2CO_3) (Merck), Folin-ciocalteu (Merck), asam galat (Aldrich).

2.2 Penyiapan Ekstrak

Sebanyak 800 gram simplisia daun jeruk purut dan 455 gram simplisia daun kelor masing-masing dimaserasi dengan menggunakan etanol 96% (1:5). Didiamkan selama 3×24 jam setelah itu disaring dan residu

hasil maserasi dimaserasi kembali menggunakan etanol 96%. Maserat hasil ekstraksi dievaporasi dengan rotary *evaporator* pada suhu 60°C sampai diperoleh ekstrak kental [6], [8].

2.3 Pembuatan Larutan Stok Baku Asam Galat

Sebanyak 50 mg asam galat dilarutkan dalam 50 mL etanol Pa. sehingga diperoleh larutan stok baku asam galat sebesar 1000 ppm.

2.4 Penentuan Panjang Gelombang Maksimal

Dipipet larutan baku asam galat 4 ppm kedalam labu takar 5 mL kemudian ditambah dengan 1,5 mL reagen Folin-Ciocalteu (1:10), dan dibiarkan selama 3 menit. Larutan selanjutnya ditambah 1,2 mL Na₂CO₃ 7,5% dan aquades sampai batas tanda. Ukur absorbansi larutan pada panjang gelombang 400-800 nm dan didapatkan panjang gelombang maksimal sebesar 761 nm [9].

2.5 Penentuan Operating Time (OT)

Dipipet larutan baku asam galat 4 ppm kedalam labu takar 5 mL kemudian ditambah dengan 1,5 mL reagen Folin-Ciocalteu (1:10), dan dibiarkan selama 3 menit. Larutan selanjutnya ditambah 1,2 mL Na₂CO₃ 7,5% dan aquades sampai batas tanda. Ukur absorbansi larutan pada panjang gelombang maksimal 761 nm dan amati absorbansi larutan setiap 1 menit selama 45 menit dan didapatkan *Operating Time* (OT) 30 menit [9].

2.6 Pembuatan Kurva Baku Asam Galat

Dibuat seri konsentrasi larutan baku asam galat 4,6,8,10,12 dan 14 ppm dengan memipet sebanyak 20,30,40,50, 60 , 70µL larutan stok baku asam galat 1000 ppm ke dalam labu takar 5 mL. Ditambah dengan 1,5 mL reagen Folin-Ciocalteu (1:10), dan dibiarkan selama 3 menit. Larutan selanjutnya ditambah 1,2 mL Na₂CO₃ 7,5% dan aquades sampai batas tanda didiamkan selama 30 menit dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 761 nm. Setelah itu dibuat kurva baku asam galat hubungan antara konsentrasi asam galat (ppm) dengan absorbansinya [9]

2.7 Penentuan Kandungan Fenolik Total

Ditimbang sejumlah ekstrak etanol daun jeruk purut (EJ) dan ekstrak etanol daun kelor (EK) dan dibuat kombinasi ekstrak dengan

perbandingan 1:0, 0:1, 1:1, 2:1 dan 1:2. Ekstrak kombinasi tersebut dilarutkan dengan etanol hingga diperoleh konsentrasi 6000 ppm. Sejumlah larutan kombinasi ekstrak dimasukkan ke dalam labu takar 5 mL, ditambah dengan 1,5 mL reagen Folin-Ciocalteu (1:10), dan dibiarkan selama 3 menit. Larutan selanjutnya ditambah 1,2 mL Na₂CO₃ 7,5% dan ditambah aquades sampai batas tanda. Setelah itu didiamkan pada suhu kamar selama *operating time* (OT) 30 menit serta absorbansinya dibaca pada panjang gelombang maksimal 761 nm. Sebagai blanko digunakan aquades dan reagen Folin-Ciocalteu. Kandungan fenolik total dinyatakan sebagai gram ekivalen asam galat tiap 100 gram berat kering sampel (% b/b EAG)

3 Hasil dan Pembahasan

3.1 Pembuatan ekstrak

Pada penelitian ini ekstrak etanol daun jeruk purut dan ekstrak etanol daun kelor diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi karena prosedur dan peralatan yang digunakan sederhana serta tidak melibatkan proses pemanasan dalam pembuatan ekstrak sehingga metabolit yang ada dalam sampel tidak rusak [10]. Penggunaan pelarut etanol dalam proses ekstraksi karena etanol merupakan pelarut yang universal sehingga dapat menarik senyawa polar maupun senyawa nonpolar [11].

Sebanyak 800 gram simplisia daun jeruk purut dan 455 gram simplisia daun kelor dimaserasi menggunakan etanol 95% dengan perbandingan 1:5 selama 3×24 jam. Setelah itu dilakukan remaserasi 3×24 jam sampai maserat bewarna bening. Maserat yang diperoleh dari hasil ekstraksi kemudian dievaporasi dengan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 60°C sampai diperoleh ekstrak kental. Masing-masing diperoleh ekstrak kental untuk ekstrak etanol daun jeruk purut sebesar 141,80 gram dan rendemen yang diperoleh sebesar 17,73%. Berdasarkan penelitian [12] dengan menggunakan pelarut ekstraksi yang sama, dihasilkan ekstrak etanol daun jeruk purut sebesar 15,40% [12]. Ekstrak etanol daun kelor yang diperoleh sebesar 86,80 gram dan rendemen yang dihasilkan lebih besar daripada

ekstrak daun jeruk purut yaitu sebesar 19,08%. Hasil rendemen ekstrak etanol daun kelor dalam penelitian ini sudah memenuhi persyaratan yaitu tidak kurang dari 9,2% [13].

Tabel 1. Hasil ekstraksi daun jeruk purut dan daun kelor

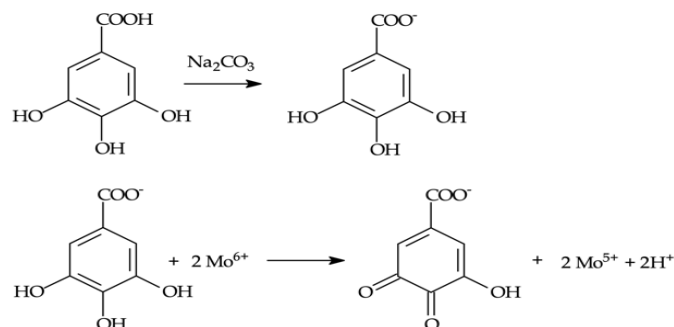
Sampel	Berat simplisia (gram)	Berat Ekstrak (gram)	Rendemen (%)
Daun jeruk purut	800	141,80	17,70
Daun kelor	455	86,80	19,08

3.2 Kandungan Fenolik Total

Kombinasi ekstrak etanol daun jeruk purut dan daun kelor diuji kandungan fenolik totalnya secara kolorimetri dengan reagen folin-ciocalte. Metode ini umum digunakan karena pengerjaannya yang sederhana. Senyawa fenolik yang ada dalam sampel akan bereaksi dengan reagen Folin-ciocalte membentuk senyawa yang berwarna biru sehingga dapat diukur absorbansinya pada panjang gelombang *visible*. Pereaksi folin akan mengoksidasi fenolat atau gugus fenolik-hidroksi mereduksi asam heteropoli (fosfomolibdat-fosfotungstat) yang terdapat dalam pereaksi folin ciocalteau menjadi suatu kompleks molibdenum-tungsten dalam suasana basa. Semakin banyak kandungan senyawa fenolik dalam sampel maka semakin banyak asam heteropoli (fosfomolibdat-fosfotungstat) yang tereduksi oleh ion fenolat menjadi kompleks molibdenum-tungsten yang ditunjukkan dengan warna biru yang dihasilkan semakin pekat [9].

Hasil kandungan fenolik total dalam penelitian ini dihitung berdasarkan persamaan kurva baku asam galat dan dinyatakan dalam % b/b ekuivalen asam galat (EAG). Asam galat digunakan sebagai pembanding karena merupakan salah satu senyawa fenolik alami sederhana turunan dari asam hidroksi benzoate dan cenderung stabil. Asam galat direaksikan dengan folin ciocalteau kemudian ditambah Na_2CO_3 7,5% sehingga reaksi berlangsung dalam suasana basa. Gugus hidroksil pada asam galat akan bereaksi dengan folin membentuk kompleks molibdenum-tungsten yang berwarna biru. Reaksi antara asam galat dengan

reagen folin ciocalteau dapat dilihat pada gambar 1[1].



Gambar 1. Reaksi asam galat dengan folin ciocalteau [1]

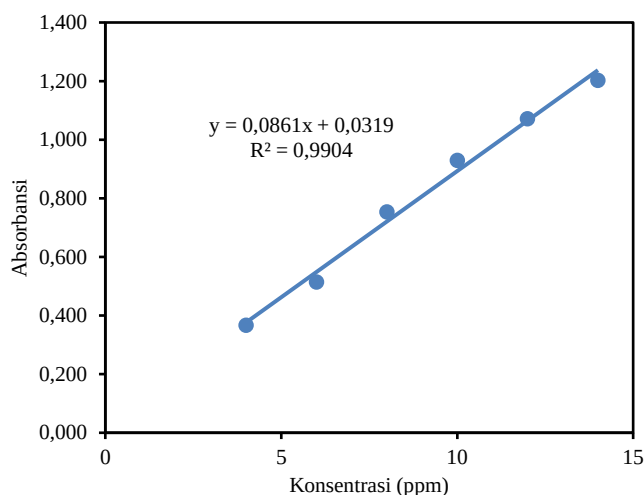
Pada penelitian ini kandungan fenolik total diukur pada panjang gelombang maksimal larutan asam galat yang ditentukan dengan *merunning* larutan asam galat pada panjang gelombang 600-700 nm. Hasil pengukuran diperoleh panjang gelombang maksimal 761 nm. Panjang gelombang maksimal ini sesuai dengan penelitian [14] yang melaporkan bahwa panjang gelombang maksimal asam galat yaitu 761 nm [14]. Hasil pengukuran *operating time* (OT) diperoleh pada menit ke-30. Panjang gelombang maksimal dan *operating time* (OT) perlu dilakukan agar dihasilkan absorbansi yang maksimal dan waktu pengukuran yang stabil sehingga diperoleh kadar fenolik total yang maksimal [1]. Data hasil *operating time* dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil penentuan *operating time*

Waktu (menit)	Absorbansi
5	0,341
10	0,348
15	0,352
20	0,355
25	0,356
30	0,355
35	0,355
40	0,355
45	0,355

Hasil panjang gelombang maksimal dan *operating time* digunakan untuk mengukur absorbansi larutan baku asam galat dan sampel.

Kurva baku asam galat dibuat dengan menghubungkan nilai absorbansi vs konsentrasi asam galat sehingga diperoleh persamaan regresi linier $y=0,0861x+0,0319$ dengan $r=0,9904$ (Gambar 2). Persamaan regresi linier ini kemudian digunakan untuk menentukan kadar fenolik total.



Gambar 2. Kurva baku asam galat untuk penentuan kandungan fenolik total dengan menghubungkan konsentrasi asam galat dan absorbansi pada panjang gelombang 761 nm (n=3)

Tabel 2. Kandungan fenolik total kombinasi ekstrak etanol daun jeruk purut dan daun kelor

Sampel	Kandungan Fenolik Total (%EAG)			Rata-rata kandungan fenolik total (% EAG)
	R1	R2	R3	
EJ:EK (1:0)	3,60	3,48	3,66	3,58 ±0,09
EJ:EK (0:1)	1,41	1,25	1,29	1,32 ±0,08
EJ:EK (1:1)	3,08	2,85	3,06	3,00±0,13
EJ:EK (2:1)	2,79	2,72	2,69	2,73±0,05
EJ:EK (1:2)	3,14	3,10	3,08	3,11±0,03

Keterangan:

EJ : Ekstrak etnol daun jeruk purut
EK : Ekstrak etanol daun kelor

Berdasarkan tabel 2 menunjukkan bahwa kandungan fenolik total terbesar terdapat pada kombinasi ekstrak etanol daun jeruk purut dan daun kelor (1:0) yang mana hanya terdapat ekstrak etanol daun jeruk purut saja yaitu sebesar $3,58 \pm 0,09$ %EAG. Hasil ini sedikit berbeda dengan penelitian [7] yang menghasilkan kandungan fenolik totak ekstrak etanol daun jeruk purut sebesar $4,01 \pm 0,13$ %EAG [7]. Kandungan fenolik total terkecil

terdapat pada kombinasi ekstrak etanol daun jeruk purut dan daun kelor (0:1) sebesar $1,32 \pm 0,08$ %EAG. Penelitian lain melaporkan bahwa kandungan fenolik total ekstrak etanol 96% daun kelor sebesar 17,12 mg GAE/g (1,712 % GAE) [15].

4 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian dapat disimpulkan bahwa kandungan fenolik terbesar pada kombinasi ekstrak EJ:EK (1:0) sebesar $3,58 \pm 0,09$ %EAG dan terkecil terdapat pada kombinasi EJ:EK (0:1) $1,32 \pm 0,08$ %EAG.

5 Pernyataan

5.1 Ucapan Terima Kasih

Ucapan terimakasih kepada Kementerian Pendidikan, Kebudayaan, Riset dan Teknologi yang telah memberikan hibah PDP tahun 2023.

5.2 Penyandang Dana

Penelitian ini mendapat dana hibah PDP tahun 2023 dari Kementerian Pendidikan, Kebudayaan, Riset dan Teknologi.

5.3 Kontribusi Penulis

The names of the authors listed in this journal contributed to this research.

Semua penulis berkontribusi dalam penulisan artikel ini.

5.4 Konflik Kepentingan

Semua penulis menyatakan tidak ada konflik kepentingan terhadap naskah ini

Acknowledgment

6 Daftar Pustaka

- [1] Guntarti A, Sugihartini N, Umayiah SA, Salamah N. Determination of Total Phenolic Levels in Ethanol Extract of *Moringa (Moringa oleifera* L.) Leaves based on Differences in Growing Sites. J Food Pharm Sci. 2021;9(1):403–11.
- [2] D K. Kelor Super Nutrisi. 2015. 10–40 p.
- [3] Azzahra F, Fauziah V, Nurfajriah W, Emmanuel SW. Daun Kelor (*Moringa oleifera*): Aktivitas Tabir Surya Ekstrak dan Formulasi Sediaan Lotion. Maj Farmasetika. 2023;8(2):133.
- [4] Verma AR, Vijayakumar M, Mathela CS, Rao C V. In vitro and in vivo antioxidant properties of different fractions of *Moringa oleifera* leaves. Food Chem Toxicol [Internet]. 2009;47(9):2196–201.

- [5] Sagala Z, Juniasti A. Uji Penetapan Kadar Total Fenolik Dan Nilai Spf (Sun Protection Factor) Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa Oleifera* L.) Determination of Total Phenolic Content and Spf (Sun Protection Factor) Value Ethanol Extract of Moringa Leaves (*Moringa Oleifera* L.). *Indones Nat Res Pharm J*. 2021;6(2):43–50.
- [6] Qonitah F, Ahwan A. Aktivitas Antioksidan Dan Kandungan Fenolik Total Fraksi n-Heksan Dan Kloroform Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix*). *J Ilm As-Syifaa*. 2019;11(2):99–102.
- [7] Qonitah F, Ahwan, Fridah W.S., Rantika P. Penentuan Kandungan Fenolik Total, Flavonoid Total Dan Aktivitas Antioksidan Daun Jeruk Purut (*Citrus Hystrix*). *J Pharm Chem Biol Sci*. 2020;
- [8] Maryam S, Baits M, Nadia A. Pengukuran Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lam.) Menggunakan Metode FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power). *J Fitofarmaka Indones*. 2016;2(2):115–8.
- [9] Alfian R, Susanti H. Penetapan Kadar Fenolik Total Ekstrak Metanol Kelopak Bunga Rosella Merah (*Hibiscus sabdariffa* Linn) Dengan Variasi Tempat Tumbuh Secara Spektrofotometri. *Pharmaciana*. 2012;2(1).
- [10] Badaring DR, Sari SPM, Nurhabiba S, Wulan W, Lembang SAR. Uji Ekstrak Daun Maja (*Aegle marmelos* L.) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Indones J Fundam Sci*. 2020;6(1):16.
- [11] Astarina NWG, Astuti KW, Warditiani NK. Skrining Fitokimia Ekstrak Metanol Rimpang Bengle (*Zingiber purpureum* Roxb.). *Jurnal Farmasi Udayana*. *J Farm Udayana*
- [12] Qonitah F, Ariastuti R, Ahwan, Maharani P, Nurul Astia Wuri. Skrinning Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Jeruk Purut (*Citrus Hystrix*) Dari Kabupaten Klaten. *J Uniba Gema*. 2022;34(01):47–51.
- [13] Kemenkes RI. *Farmakope Herbal Indonesia Edisi II*. Jakarta; 2017.
- [14] Saputri ADS, Sa'ad M. Penetapan Kadar Fenolik Dan Flavonoid Fraksi Daun Insulin (*Smallanthus sonchifolius*) Secara Spektrofotometri Uv-Vis. *J Farm Medica/Pharmacy Med J*. 2023;6(1):51–8.
- [15] Rudiana T, Indriatmoko DD, Komariah. Aktivitas Antioksidan Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Salam (*Syzygium polyanthum*) Dan Daun Kelor (*Moringa oleifera*). *Maj Farm dan Farmakol*. 2020;25(1):20–2.