

Profil Kimia dan Aktivitas Antioksidan Fraksi Air Terhidrolisis dari Daun Piladang (*Solenostemon Scutellarioides*)

Verawati, Dira, Dira Arieska

Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia Perintis Padang

Detail Artikel

Diterima : 11 Januari 2019

Direvisi : 02 Februari 2019

Diterbitkan : 27 April 2019

Kata Kunci

Piladang

Solenostemon scutellarioides

antioksidan

fenolat

Penulis Korespondensi

Name : Verawati

Affiliation : Sekolah Tinggi

Farmasi Indonesia Perintis Padang

Email : verawati81apt@gmail.com

ABSTRAK

Daun Piladang (*Solenostemon scutellarioides*) merupakan obat tradisional Sumatera Barat yang memiliki banyak kandungan metabolit sekunder berpotensi sebagai antioksidan. Metabolit sekunder seperti golongan fenolat yang terdapat pada fraksi polar umumnya terdapat dalam bentuk glikosida. Proses hidrolisis dapat memutuskan ikatan gula sehingga dapat melepaskan aglikon yang memiliki aktivitas antioksidan lebih tinggi daripada bentuk glikosidanya. Pada penelitian ini dilakukan hidrolisis asam terhadap fraksi air (polar) daun piladang, menggunakan asam asetat, asam fosfat dan asam klorida. Profil kimia fraksi hasil hidrolisis ditentukan secara kualitatif dengan KLT dan secara kuantitatif dengan metode Folin Ciocalteu untuk memperoleh kadar fenolat total. Aktivitas antioksidan fraksi hasil hidrolisa diperiksa dengan metode perangkapan radikal DPPH. Hasil penelitian menunjukkan adanya perbedaan

profil KLT dari masing-masing fraksi hasil hidrolisis. Kadar fenolat tertinggi diperoleh pada hidrolisis dengan asam fosfat yaitu 7,736 % diikuti asam klorida 4,218% dan asam asetat 2,024%. Aktivitas antioksidan tertinggi ditunjukkan pula oleh hasil hidrolisis dengan asam fosfat yaitu dengan IC50 413,92 ppm yang termasuk ke dalam kategori lemah.

ABSTRACT

Piladang leaves (*Solenostemon scutellarioides*) is a traditional West Sumatra medicine which has a lot of secondary metabolite content which has the potential as an antioxidant. Secondary metabolites such as the phenolic group found in the polar fraction are generally in the form of glycosides. The hydrolysis process can break the bond of sugar so that it can release aglycone which has higher antioxidant activity than the form of glycosides. In this study, the acid hydrolysis of the water fraction (polar) of piladang leaves was carried out using acetic acid, phosphoric acid and hydrochloric acid. The chemical profile of the hydrolysis fraction was determined qualitatively by TLC and quantitatively by the Folin Ciocalteu method to obtain total phenolic levels. The antioxidant activity of the hydrolysis fraction was examined by the DPPH radical scavenging method. The results showed a difference in the TLC profile of each hydrolysis fraction. The highest phenolic content was obtained by hydrolysis with phosphoric acid which was 7,736% followed by hydrochloric acid 4,218% and acetic acid 2,024%. The highest antioxidant activity was also shown by the results of hydrolysis with phosphoric acid, with IC50 413.92 ppm which was included in the weak category.

PENDAHULUAN

Reactive oxygen species (ROS) diproduksi oleh makhluk hidup sebagai hasil dari metabolisme seluler yang normal actor lingkungan seperti polusi udara dan asap rokok. ROS merupakan molekul oksidan radikal yang sangat reaktif dan dapat merusak struktur sel seperti karbohidrat, asam nukleat, lipid dan protein serta mengubah fungsinya. Ketidakseimbangan antara oksidan dan antioksidan disebut dengan istilah stress oksidatif (Birben, 2012). Stress oksidatif memiliki peranan terhadap berbagai keadan patologis dan penyakit seperti kanker, kelainan saraf, aterosklerosis, hipertensi, iskemia, diabetes, asma dan berbagai penyakit paru-paru (Srivastava, 2015). Antioksidan merupakan zat yang dapat menetralkan molekul radikal bebas berikutan dengan dampak-dampak negatifnya. Antioksidan bekerja menangkalkan efek negative radikal bebas dengan berbagai cara, antara lain pencegahan (menekan pembentukan radikal bebas), memutuskan reaksi berantai, dan memperbaiki kerusakan sel (Bajpai, 2016)

Sejumlah antioksidan sintetik telah banyak digunakan dalam industry makanan, kosmetika dan pengobatan, contohnya *butylated hydroxytoluene* (BHT), *butylated hydroxyanisole* (BHA) dan *butylated hydroxyquinoline* (BHQ). Namun, beberapa fakta dari antioksidan sintetik ini, seperti bersifat volatile dan tidak stabil terhadap panas, regulasi yang ketat dalam penggunaannya sebagai zat additive makanan serta adanya potensi karsinogenik dari senyawa ini, membuat perhatian produsen dan masyarakat beralih untuk mencari antioksidan alami yang lebih aman (Bajpai, 2016).

Penelitian terhadap antioksidan alami telah menjadi tren pada saat ini. Ratusan tumbuhan obat diteliti potensinya sebagai antioksidan dan komponen kimia aktif yang bertanggung jawab terhadap aktivitas tersebut. *Solenostemon scutellarioides* (L.) Codd yang di Indonesia dikenal dengan nama iler atau miana (Indonesia), piladang (Sumbar) telah digunakan sebagai tanaman obat pada masyarakat dengan cara tradisional. Tumbuhan semak semusim ini banyak tersebar di Indonesia antara lain di pulau Sumatera, Jawa dan Sulawesi (Depkes RI, 1989). Piladang digunakan oleh masyarakat untuk mengatasi berbagai keadaan patologis seperti ambeien, diabetes melitus, demam, diare dispepsia, terlambat menstruasi, dan bisul (Zulfahmi, 2010). Daun tanaman ini mengandung metabolit sekunder yang aktif sebagai antioksidan seperti fenolat dan flavonoid (Verawati, 2016). Berdasarkan hasil uji aktivitas antioksidan terhadap beberapa tipe fraksi dari ekstrak daun Piladang, diketahui bahwa fraksi polar butanol memiliki aktivitas yang aktif dengan IC_{50} 66,21 ppm (Verawati, 2016).

Fraksi polar umumnya mengandung senyawa-senyawa organik dalam bentuk terikat dengan gula (glikosida). Perlakuan hidrolisis dapat membebaskan senyawa dari ikatan gulanya sehingga dihasilkan aglikon. Senyawa fenolik pada tanaman banyak terdapat dalam bentuk glikosida dan sangat jarang dalam bentuk bebasnya (Annegowda dkk.,2010). Dengan membebaskan aglikon dari bentuk glikosida yang bersifat polar diharapkan dapat meningkatkan aktivitas antioksidannya. Pembebasan aglikon ini dapat dilakukan dengan cara hidrolisis asam atau basa (Sani, 2012). Berdasarkan penjabaran diatas, pada penelitian ini akan dilakukan penentuan profil kimia (profil kromatografi lapis tipis dan kadar fenolat total) dan aktivitas antioksidan pada fraksi air daun piladang (*Solenostemon scutellarioides* (L.) Codd) setelah dihidrolisis dengan jenis asam yang berbeda yaitu asam Klorida, asam Phospat dan asam Asetat.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah rotary evaporator, spektrofotometer UV-VIS, corong pisah, corong, gelas ukur, sudip, spatel, pipet tetes, erlenmeyer, labu ukur, beaker glass, kaca arloji, vial, aluminium foil, timbangan analitik, plat tetes, cawan penguap, spidol, blender, botol, kapas, oven, plat KLT, seperangkat alat kromatografi lapis tipis (KLT) dan pipet volume.

Bahan yang digunakan adalah daun piladang (*Solenostemon scutellarioides* (L.) Codd) yang telah dikeringanginkan, n-heksan, etil asetat, etanol 70%, aquadest, natrium sulfat anhidrat, 2N asam klorida (HCl), 2N asam fosfat (H₃PO₄), 2N Asam Asetat (CH₃COOH), metanol, DPPH, kloroform, FeCl₃, reagen Folin-Ciocalteu, natrium karbonat, asam galat.

Prosedur Penelitian

Penyiapan dan Identifikasi Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun piladang (*Solenostemon scutellarioides* (L.) Codd) yang diambil di daerah Padang Pariaman, Sumatera Barat. Sampel diidentifikasi di Herbarium ANDA Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA), Universitas Andalas, Padang.

Daun yang telah diambil dibersihkan dari pengotor dan ditimbang sebanyak 7 kg, lalu dikeringanginkan tanpa bantuan sinar matahari langsung hingga dapat dipatahkan dengan jari. Setelah kering daun diserbukan dengan menggunakan blender lalu ditimbang.

Ekstraksi dan Fraksinasi Daun Piladang

Serbuk kering daun piladang (930 g) dimaserasi dengan alkohol dengan perbandingan 1: 10, di dalam wadah botol coklat. Maserasi berulang sebanyak 3 x 48 jam. Hasil maserasi disaring, dan filtrat dari maserasi 1 sampai 3 digabung, kemudian diuapkan pelarutnya dengan rotary evaporator sehingga diperoleh ekstrak kental. Sebanyak 50,71 g ekstrak kental diencerkan dengan aquades sebanyak 200 ml. Larutan air-ekstrak difraksinasi dengan 4x150 ml heksan dalam corong pisah. Lapisan heksan dipisahkan dan digabung. Fraksi heksan diuapkan pelarutnya dengan rotary evaporator sehingga diperoleh fraksi kental nonpolar. Lapisan air difraksinasi kembali dengan 4 x 150 ml etil asetat untuk memperoleh fraksi semi polar. Lapisan air atau fraksi sisa selanjutnya digunakan dalam penelitian ini.

Hidrolisis Asam Terhadap Fraksi Air

Metode hidrolisis asam dilakukan berdasarkan Irianti (2016) dengan modifikasi dimana 3 gram fraksi air diencerkan dengan 25 ml 2N asam klorida dan 25 ml etanol 70%. Larutan dimasukkan dalam labu alas bulat dan direfluks selama 60 menit. Setelah larutan didinginkan partisi cair-cair berulang dengan etil asetat (1:1). Fraksi etil asetat disaring menggunakan natrium sulfat anhidrat untuk menghilangkan tapak air. Fraksi etil asetat kemudian dikentalkan menggunakan rotary evaporator. Lakukan hal yang sama dengan menggunakan asam fosfat, dan asam asetat. Fraksi air sebelum hidrolisis (F_{Xsb}) serta fraksi etil asetat dari hasil hidrolisis dengan asam klorida (F_{XHCl}), asam fosfat (F_{Xfosfat}) dan asam asetat (F_{Xasetat}) digunakan untuk analisis selanjutnya.

Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Fraksi Air Daun Piladang Sebelum dan Setelah Hidrolisis

Analisis kualitatif dilakukan dengan kromatografi lapis tipis (KLT). Hasil analisis dengan KLT ini digunakan untuk mengamati bercak sampel berupa jumlah noda, nilai R_f (*retention factor*) dan warna noda. Fase diam yang digunakan adalah silika gel 60 PF₂₅₄. Diaktifkan terlebih dahulu pada suhu 105° C selama 30 menit. Sampel uji ditotolkan pada fase diam kemudian dikembangkan dengan fase gerak.

Fase gerak yang digunakan heksan : etil asetat (6:4) dan (7:3) dan bercak yang muncul kemudian dilihat pada sinar tampak, UV₂₅₄ dan UV₃₆₅ dan juga menggunakan pereaksi semprot FeCl₃ dan DPPH (Irianti dkk, 2016).

Pengukuran Kadar Fenolat Fraksi Air Daun Piladang Sebelum dan Setelah Hidrolisis

Kadar fenolat total diukur dengan metode Folin Ciocalteu (Poumorad, 2006). Dipipet 0,5 ml larutan sampel ($F_{x_{sb}}$, $F_{x_{HCl}}$, $F_{x_{fosfat}}$, $F_{x_{asetat}}$) konsentrasi 100 ppm, ditambahkan 5 ml pereaksi Folin-Ciocalteu (diencerkan 1: 10 aquadest), kemudian tambahkan 4 ml larutan natrium karbonat 1M kocok homogen, biarkan pada suhu kamar selama 15 menit dan ukur serapan panjang gelombang serapan maksimum dengan spektro UV-VIS yang memberikan warna kompleks biru. Pengukuran kadar fenolat dari sampel uji menggunakan persamaan regresi dari kurva kalibrasi larutan standar. Kurva kalibrasi diperoleh dengan plot data konsentrasi (sumbu x) dan nilai absorban (sumbu y) dari standar eksternal. Standar eksternal yang digunakan adalah asam galat. Asam galat dengan deret konsentrasi larutan 20, 40, 60, 80 dan 100 ppm diperlakukan seperti larutan sampel dan diukur serapannya pada panjang gelombang serapan maksimum (758 nm) (Mosquera,O.M et al, 2006). Konsentrasi sampel yang digunakan adalah 1000 ppm dan pengukuran diulangi tiga kali.

Pengukuran Aktivitas Antioksidan

Aktivitas antioksidan diukur dengan metode perangkapan radikal DPPH (Molyneux, 2004). Masing-masing larutan sampel dipipet 0,2 ml dan ditambah larutan 3,8 ml DPPH 35 ppm. Campuran larutan diinkubasi selama 30 menit di tempat gelap, kemudian diukur serapannya pada panjang gelombang serapan maksimum radikal DPPH yaitu 514 nm. Dari data serapan diitung persentase inhibisi sampel. Untuk menentukan IC₅₀, dibentuk kurva kalibrasi dari data konsentrasi versus % inhibisi, sehingga diperoleh persamaan regresi. Nilai IC₅₀ akan diperoleh dengan memasukkan nilai 50% inhibisi ke dalam persamaan regresi. Pada pengukuran aktivitas antioksidan ini, digunakan asam galat sebagai zat pembanding.

HASIL DAN PEMBAHASAN

HASIL

1. Penyiapan dan Identifikasi Sampel

7 kg daun piladang segar yang disiapkan untuk ekstraksi melalui proses pengeringan dan penyerbukan menghasilkan 930 g serbuk kering. Sampel daun telah teridentifikasi dengan nomor koleksi 220/K-ID/ANDA/V/2017 dengan nama ilmiah *Solenostemon scutellarioides* (L.) dan sinonim *Plectranthus scutellarioides* (L.) R. Br.



Gambar 1. (a) daun Piladang; (b) tanaman Piladang

2. Ekstraksi dan Fraksinasi Daun Piladang

Hasil ekstraksi dan fraksinasi daun piladang diperoleh dengan bobot dan rendemen seperti tercantum dalam tabel 1.

Tabel 1. Rendemen ekstrak dan fraksi-fraksi daun Piladang

Sampel	Bobot awal	Berat ekstrak/Fraksi	% rendemen
Ekstrak Etanol	930 g (serbuk daun)	150,01 g	16,13 %
Fraksi Heksan	50,71 g (ekstrak)	6,03 g	11,90 %
Fraksi Etil Asetat	50,71 g (ekstrak)	1,68 g	3,32 %
Fraksi Air	50,71 g (ekstrak)	17,54 g	34,60 %

3. Hidrolisis Asam Terhadap Fraksi Air

Rendemen hasil hidrolisis beberapa asam terhadap fraksi air daun piladang disajikan dalam tabel 2.

Tabel 2. Rendemen hasil hidrolisis fraksi air

Sampel	Bobot awal	Berat Fraksi	% rendemen
Hidrolisis asam klorida	3 g (fraksi air)	1,56 g	51,99 %
Hidrolisis asam fosfat	3 g (fraksi air)	1,43 g	47,73 %
Hidrolisis Asam Asetat	3 g (fraksi air)	1,01 g	33,55 %

4. Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Fraksi Air Daun Piladang Sebelum dan Setelah Hidrolisis

Uji KLT menggunakan 2 macam eluen yaitu Heksan/Etil asetat (6:4) dan Heksan/Etil asetat (7:3), dimulai dari penotolan kiri ke kanan dengan sampel : fraksi heksan - fraksi etil asetat - fraksi air ($F_{x_{sb}}$) – fraksi air terhidrolisis asam klorida ($F_{x_{HCl}}$) – Fraksi air terhidrolisis asam fosfat ($F_{x_{fosfat}}$) – Fraksi air terhidrolisis asam asetat ($F_{x_{asetat}}$). Hasil ditampilkan dalam tabel berikut ini.

Tabel 3. Hasil pemeriksaan kromatografi lapis tipis dengan eluen Heksan/Etil asetat perbandingan 6:4 dan 7:3

Sampel	Nilai Retention Factor (Rf)					
	Heksan/Etil asetat (6:4)			Heksan/Etil Asetat (7:3)		
	UV	DPPH	FeCl ₃	UV	DPPH	FeCl ₃
Fraksi n-Heksan	0,12	0,29	0,12	0,06	0,06	0,06
	0,29	0,55	0,29	0,13	0,13	0,13
	0,55		0,55	0,61		
	0,84			0,92		
	0,95					
Fraksi Etil Asetat	0,09	0,09	0,09	0,27	0,27	0,27
	0,29	0,29	0,29	0,36	0,36	0,36
	0,40	0,40	0,40	0,49		
	0,51		0,75	0,61		
	0,75			0,72		
	0,84			0,87		
0,95						
Fxsb	-	-	-	-	-	-
FX _{HCl}	0,12	0,12	0,12	0,06	0,06	0,06
	0,81			0,13	0,13	0,13
	0,95			0,92		
FX _{Phospat}	0,12	0,12	0,12	0,06	0,06	0,06
	0,40	0,41	0,41	0,13	0,13	0,13
	0,81			0,27	0,27	0,27
	0,95			0,33	0,33	0,33
				0,41		
				0,47		
				0,56		
			0,73			
			0,92			
FX _{Asetat}	0,12	0,12	0,12	0,06	0,06	0,06
	0,40	0,41	0,41	0,13	0,13	0,13
	0,81			0,27	0,27	0,27
	0,95			0,33	0,33	0,33
				0,41		
			0,92			

5. Pengukuran Kadar Fenolat dan Aktivitas Antioksidan Fraksi Air Daun Piladang Sebelum dan Setelah Hidrolisis

Tabel 4. Pengukuran kadar fenolat total dalam Fraksi air sebelum dan sesudah hidrolisis

No	Sampel	Kadar Fenolat (%)	IC ₅₀ antioksidan (ppm)
1	FX _{sb}	6,73	1318,69
2	FX _{HCl}	4,21	731,17
3	FX _{phospat}	7,74	413,92
4	FX _{asetat}	2,02	1226,67

PEMBAHASAN

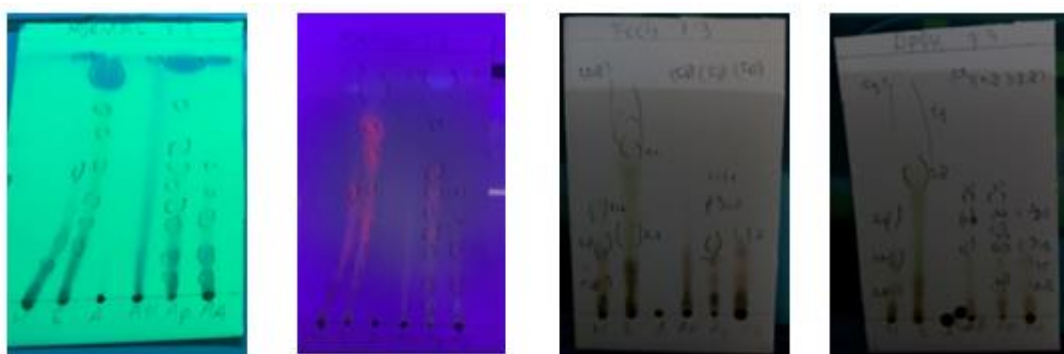
Proses hidrolisis asam yang dilakukan terhadap fraksi air bertujuan untuk membebaskan senyawa aglikon dari ikatan gulanya sehingga dapat meningkatkan aktivitas antioksidan dari zat tersebut. Proses hidrolisis dapat meningkatkan aktivitas antioksidan dari *Nigella sativa* dan Germinated Brown Rice (Irianti, 2016). Proses hidrolisis sangat dipengaruhi oleh jenis zat penghidrolisis, struktur aglikon, derajat hidrolisis, jumlah gula, posisi penempelan gula (Irianti, 2016). Penelitian Irianti (2016) menggunakan hidrolisis asam klorida terhadap fraksi air dari buah talok. Hasilnya menunjukkan bahwa proses hidrolisis dengan asam klorida selama 1 jam memberikan aktivitas antioksidan yang lebih baik dibandingkan yang 3 jam. Pada penelitian ini dilakukan variasi jenis asam untuk menghidrolisis fraksi air daun piladang yaitu menggunakan asam klorida, asam fosfat dan asam asetat dengan proses hidrolisis yang dilakukan selama 1 jam (60 menit).

Sebelum melakukan hidrolisis, terhadap serbuk kering daun piladang dilakukan proses ekstraksi dan fraksinasi. Proses ekstraksi menggunakan etanol sebagai elarut menghasilkan ekstrak daun piladang sebanyak 16,13 %. Setelah ekstraksi, dilanjutkan dengan fraksinasi dengan menggunakan pelarut heksan dan etil asetat secara berurutan. Tujuan fraksinasi ini adalah untuk memisahkan komponen kimia yang bersifat nonpolar dan semi polar yang lebih banyak mengandung senyawa-senyawa aglikon bebas sehingga fraksi sisanya atau disebut juga fraksi air akan banyak mengandung senyawa polar berikatan gula (glikosida). Fraksi air dari daun piladang diperoleh dengan rendemen 34,60%, lebih banyak dibandingkan fraksi heksan (11,90%) dan fraksi etil asetat (3,32%). Hal ini menunjukkan bahwa daun piladang memiliki banyak kandungan komponen senyawa polar.

Pemeriksaan profil KLT dari fraksi hasil hidrolisis dengan asam dilakukan untuk memperoleh gambaran kualitatif komponen kimia yang terdapat pada masing-masing fraksi. Hasil yang diperoleh berupa jumlah noda, nilai R_f dan warna noda. Pada pemeriksaan KLT ini, keempat fraksi ($F_{X_{sb}}$, $F_{X_{HCl}}$, $F_{X_{fosfat}}$, $F_{X_{asetat}}$) dibandingkan juga dengan fraksi heksan dan fraksi etil asetat yang diperoleh dari ekstrak awal. Hal ini bertujuan untuk memeriksa, apakah aglikon yang terbebaskan memiliki R_f yang sama dengan noda (senyawa) yang terkandung pada fraksi heksan ataupun etil asetat. Pada pengujian KLT dengan menggunakan eluen n-heksan : etil asetat 6:4 dan 7:3, terdapat beberapa noda pada hasil setelah hidrolisis yang memiliki nilai R_f sama dengan nilai R_f pada fraksi n-heksan dan fraksi etil asetat. Gambar di bawah ini menunjukkan hasil KLT dari 6 fraksi yang berbeda, yaitu dimulai dari spot kiri ke kanan adalah : fraksi heksan - fraksi etil asetat - fraksi air ($F_{X_{sb}}$) – fraksi air terhidrolisis asam klorida ($F_{X_{HCl}}$) – Fraksi air terhidrolisis asam fosfat ($F_{X_{fosfat}}$) – Fraksi air terhidrolisis asam asetat ($F_{X_{asetat}}$)



Gambar 2. Hasil KLT dengan eluen Heksan/Etil asetat (6:4) ; a. penampak noda UV₂₅₄ ; b. penampak noda UV₃₆₆; c. penampak noda FeCl₃; d. Penampak noda DPPH



Gambar 3. Hasil KLT dengan eluen Heksan/Etil asetat (7:3) ; a. penampak noda UV₂₅₄ ; b. penampak noda UV₃₆₆; c. penampak noda FeCl₃; d. Penampak noda DPPH

Berdasarkan pola KLT yang ditunjukkan gambar 2 dan gambar 3, terlihat hidrolisis dengan asam fosfat menunjukkan komponen senyawa kimia yang lebih banyak dibanding asam klorida dan asam asetat. Namun tidak semua spot noda bereaksi dengan reagen FeCl₃ dan DPPH yang berarti kandungan fenolat dan senyawa berpotensi antioksidan pada hasil hidrolisis masih rendah. Pada pemberian DPPH maka noda yang terbentuk akan berwarna kuning menandakan adanya aktivitas antioksidan sedangkan pada FeCl₃ diperoleh warna violet/ biru/ hijau/ hijau kebiruan menandakan adanya fenolat didalam sampel.

Pengukuran kadar fenolat total dalam sampel digunakan pereaksi Folin-Ciocalteu yang sensitif bereaksi dengan senyawa fenol. Reagen Folin-Ciocalteu berwarna kuning dengan adanya fenolat akan berubah menjadi biru dalam suasana basa. Panjang gelombang maksimum yang didapat adalah 758 nm ditentukan dengan menggunakan spektrofotometer UV-VIS. Asam galat digunakan sebagai larutan standar hal ini dikarenakan asam galat merupakan salah satu jenis senyawa golongan fenolat selain itu asam galat lebih murah dibandingkan pembeding yang lain.

Dalam penentuan kadar fenolat total terlebih dahulu dibuatkan kurva kalibrasi dengan lima deret konsentrasi asam galat yaitu 20,40,60,80,100 ppm dan selanjutnya diukur serapannya dengan menggunakan spektrofotometer UV-VIS sehingga didapatkan persamaan regresi linear dari asam galat yaitu $y = 0,1275 + 0,005435x$ dengan koefisien korelasi (r) yaitu 0,994 nilai koefisien korelasi dinyatakan cukup baik karena mendekati 1. Berdasarkan hasil persamaan regresi linear didapatkan simpangan baku (SB) yaitu 0,01543 ; batas deteksi (BD) 8,517 $\mu\text{g/mL}$; batas kuantisasi (BK) 28,39 $\mu\text{g/mL}$. Batas deteksi merupakan konsentrasi analit terendah yang terdapat didalam sampel yang masih terdeteksi sedangkan batas kuantisasi adalah jumlah terkecil analit yang masih dapat diukur dengan cermat dan seksama.

Hasil pengukuran kadar fenolat total diperoleh kadar tertinggi pada fraksi air terhidrolisis fosfat ($F_{x_{\text{fospat}}}$) yaitu 7,73689% diikuti dengan $F_{x_{\text{klorida}}}$ 4,21% dan $F_{x_{\text{asetat}}}$ 2,02%. Data ini didukung oleh profil KLT yang menunjukkan fraksi terhidrolisis fosfat lebih kaya akan kandungan kimia.

Penentuan aktivitas antioksidan dari daun piladang dilakukan dengan metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil) panjang gelombang serapan maksimum DPPH 514 nm. Radikal bebas DPPH memerlukan waktu untuk bereaksi dengan sampel agar terbentuk kompleks antara radikal DPPH dengan senyawa antioksidan, pada penelitian ini digunakan operating time yaitu 30 menit hal itu karena pengukuran aktivitas antioksidan metode DPPH secara umum dilakukan pada menit ke-30. Meskipun pada kondisi sebenarnya waktu reaksi antara sampel dengan DPPH sangat bervariasi bergantung pada senyawanya (Plazonic dkk., 2009).

Konsentrasi ekstrak berbanding lurus dengan aktivitas penangkapan radikal DPPH. Semakin besar konsentrasi senyawa antioksidan maka semakin besar aktivitas penangkapan radikal DPPH. Senyawa antioksidan mampu mereduksi radikal DPPH sehingga menyebabkan penurunan absorbansi DPPH yang ditandai dengan perubahan warna ungu menjadi kuning. Pada penelitian ini ditentukan nilai IC_{50} dimana semakin kecil nilai IC_{50} maka aktivitas antioksidan semakin tinggi. Berdasarkan penelitian maka urutan aktivitas dimulai yang paling besar adalah fraksi air terhidrolisis fosfat ($F_{x_{\text{fospat}}}$) > fraksi air terhidrolisis HCl ($F_{x_{\text{HCl}}}$) > fraksi air terhidrolisis asam asetat ($F_{x_{\text{asetat}}}$) > fraksi air sebelum hidrolisis ($F_{x_{\text{sb}}}$). Aktivitas antioksidan $F_{x_{\text{fospat}}}$ tergolong lemah, sedangkan fraksi lainnya dapat dinyatakan tidak aktif. Menurut Jun et.al 2003, aktivitas antioksidan digolongkan sangat aktif jika nilai IC_{50} kurang dari 50 ppm, digolongkan aktif bila nilai IC_{50} 50-100 ppm, digolongkan sedang bila nilai IC_{50} 101- 250 ppm, dan digolongkan lemah bila nilai IC_{50} 250-500 ppm, serta digolongkan tidak aktif bila nilai IC_{50} lebih besar dari 500 ppm. Fraksi air memiliki aktivitas antioksidan lebih rendah dibandingkan dengan fraksi air setelah hidrolisis, karena proses hidrolisis mampu membebaskan aglikon sehingga gugus hidroksil pada aglikon bertambah. Aktivitas antioksidan dipengaruhi jumlah gugus hidroksil dan konfigurasi atau kapasitas dari reaktivitas gugus hidroksil. Gugus hidroksil berdekatan yang memiliki posisi orto satu sama lain pada cincin aromatis, diketahui memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi. Hal ini disebabkan oleh kemampuan orto dihidroksil untuk membuat jembatan hidrogen intramolekuler antara hidrogen bebas pada pada hidroksilnya dengan radikal fenoksinya sebagai bentuk antara, sehingga akan meningkatkan stabilitas radikalnya dan selanjutnya membentuk diketon (Molyneux, 2004). Dengan demikian, tidak semua senyawa fenolat memiliki aktivitas antioksidan terkait dengan strukturnya dan halangan sterik untuk reaksi perangkapan radikal. Aktivitas antioksidan tidak hanya diberikan oleh fenolat namun juga dapat diberikan oleh senyawa lain sehingga meskipun kadar fenolat fraksi air terhidrolisis asam asetat rendah namun ada kemungkinan terdapat senyawa golongan lain yang memberikan aktivitas antioksidan. Nilai IC_{50} yang didapatkan sampel jika dibandingkan pada senyawa pembanding (asam galat) masih jauh lebih rendah yaitu pada hasil hidrolisis dengan asam fospat jauh lebih rendah 36,5 kali.

Berdasarkan hasil analisa kualitatif dan kuantitatif menggunakan kromatografi lapis tipis; kadar fenolat total dan aktivitas antioksidan dari fraksi air daun piladang menunjukkan bahwa penggunaan asam teroksidasi mampu meningkatkan kadar senyawa bebas dalam ekstrak dimana dengan adanya oksigen meningkatkan kekuatan pelepasan proton sehingga proses hidrolisis semakin baik. Fraksi polar yang digunakan pada penelitian sebelumnya di

daun piladang adalah fraksi butanol (Verawati, 2016), Pada penelitian ini fraksi polar yang digunakan adalah fraksi air yang diperoleh dari hasil fraksinasi ekstrak setelah menggunakan heksan dan etil asetat. Kemungkinan besar lebih banyak golongan senyawa-senyawa polar lainnya yang bukan fenolat terdapat dalam fraksi ini sehingga perolehan kadar fenolat dan aktivitas antioksidan yang ditemukan jauh lebih rendah jika dibandingkan menggunakan fraksi butanol.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat diambil kesimpulan bahwa : hidrolisis fraksi air dengan jenis asam yang berbeda memberikan hasil profil KLT, kadar fenolat dan aktivitas antioksidan yang berbeda pula. Fraksi air terhidrolisis asam phospat (FX_{phosphat}) memberikan hasil yang lebih tinggi dibandingkan yang lain yaitu komponen kimia yang terdeteksi di KLT lebih banyak, kadar fenolat paling tinggi (7,736%) dengan aktivitas antioksidan IC_{50} 413,92 $\mu\text{g/ml}$ termasuk kategori lemah.

DAFTAR PUSTAKA

- Annegowda, H. V., Nee, C. W., Mordi, M. N., Ramanathan, S., Mansor, S. M., 2010, *Evaluation of Phenolic Content and Antioxidant Property of Hydrolised Extracts of Terminalia catappa L. Leaf*, *Asian J. Plant Sci.*, 9(8),479-485
- Birben, E., Sahiner, U. M., Sackesen, C., Erzurum, S., & Kalayci, O. (2012). Oxidative stress and antioxidant defense. *The World Allergy Organization Journal*, 5(1), 9-19.
- Bajpai V.K., Rather I.A., Shukla S. (2016) Oxidative Stress: Role of Natural Antioxidant Compounds. In: Garg N., Abdel-Aziz S., Aeron A. (eds) *Microbes in Food and Health*. Springer, Cham
- Irianti T. Puspitasari A. Dan Choironi NA. 2013, *Aktivitas Penangkapan Radikal 2,2-Difenil-Pikrilhidrazil (DPPH) Oleh Ekstrak Etanolik daun Mengkudu (Morinda citrifolia L.), Fraksi air dan fraksi air terhidrolisis*, *jurnal Bahan Alam Indonesia*, Vol. 8 (5): 302-309
- Molyneux, P. 2004, *The Use of A Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) For Estimating Antioxidant Activity*, *songklanarin J. Sci. Technol.*, 26(2), 211-219.
- Mosquera, O. M., Yaned, M. C., Diana, C. B., and Jaime, N., 2006, *Antioxidant Activity of Twenty Five Plants From Biodiversity Mem Inst Oswaldo Cruz* 5: 1142- 1145.
- Plazonic, A., Bucar, F., Males, Z., Mornar, A., Nigovic, B., & Kujundzic, N. 2009, *Identification and quantification of Flavonoids and phenolic Acids in Burr Parsley (Caucalis Platycarpus L.) Using High-Performance Liquid Chromatography with Diode Array Detection and Electrospray Ionization Mass Spectrometry*, *Mol*, 14(7), 2466-2490.
- Poumorad, F., Hosseinimehr, N., Shohabimajd., 2006, *Antioxidant Activity Phenol and Flavanoid Content of Some Selected Iranian Medicinal Plants*, *African Journal of Biotechnology*, 11: 1142- 1145
- Sani, I. M., Iqbal, S., Chan, K. W., Ismail, M., 2012, *Effect of Acid and Base Catalyzed Hydrolysis on the Yield of Phenolics and Antioxidant Activity of Extacts from Germinated Brown Rice (GBR)*, *Mol*, 17, 7584-7594.
- Srivastava, K. K., & Kumar, R. (2014). Stress, Oxidative Injury and Disease, *Indian Journal of Clinical Biochemistry : IJCB*, 30(1), 3-10.
- Verawati, Mimi Aria, Afdhil Arel, Efi Riyanto, 2016, *Antioxidant activity and Total Flavonoid Content of Fractions of Piladang Leaf Extract*, *Der Pharmacia Lettre*, 8 (18)

Zulfahmi, Bakhendri, S., 2010. Eksplorasi Tanaman Obat Di Kabupaten Kampar, *Eksplorasi
Tanaman Obat*, 1, 1:31-38.