

PENGARUH PELARUT PARTISI PADA KANDUNGAN FENOLAT TOTAL DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK KULIT BATANG *Toona sinensis* [Effect of Partition Solvents on Total Phenolic Contents and Antioxidant Activities of *Toona sinensis* Bark Extract]

Tri Murningsih

Bidang Botani, Pusat Penelitian Biologi - LIPI,
Jl. Raya Bogor Km. 46, Cibinong 16911.
e-mail: melania_tri@yahoo.com

ABSTRACT

Toona sinensis a plant species included in Meliaceae family. In China, the leaves of *T. sinensis* are used in Chinese traditional and herbal drugs for the treatment of rheumatoid arthritis, urethritis, gastric ulcer, enteritis, diarrhea, chronic dysentery, itching, and cancer. Bark is the part of plant that contains phenolic compounds. Phenolic compounds have redox properties that can act as a reducing agent or hydrogen donor so its have antioxidant properties. In this study, four types of solvent were used for partition of *T. sinensis* bark extract. The fractions were used to examine the effects of solvents on total phenolic content and antioxidant activity. Total phenolic content of fractions was determined using Folin-ciocalteu reagent while antioxidant activity was carried out using phosphomolybdenum, 1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl (DPPH) radical scavenging, ferric reducing power and β -carotene bleaching assay. Results showed that ethyl acetate fraction has the highest content of total phenolic compound ($36,42 \pm 0,05$ mg GAE/g) and the strongest of antioxidant activity on total antioxidant ($34,44 \pm 0,03$ mg AAE/g), DPPH radical scavenging ($IC_{50} = 35,23$ μ g/mL), ferric reducing power ($IC_{50} = 128,55$ μ g/mL) and β -carotene bleaching assay (IC_{50} fraksi ($125,62$ μ g/mL). Instead of *n*-hexane fraction has the lowest content of total phenolic compound and the weakest of antioxidant activity of all antioxidant activity assay. It can be concluded that the difference in the polarity of the solvent partitioning lead to differences in total phenolic content and antioxidant activity.

Key words: *Toona sinensis*, partition solvent, phenolic compound, antioxidant activity

ABSTRAK

Toona sinensis merupakan tumbuhan dalam keluarga Meliaceae. Di China daun *T. sinensis* digunakan sebagai bahan obat tradisional dan obat herbal untuk mengobati *rheumatoid arthritis*, uretritis, ulkus lambung, enteritis, disentri, gatal-gatal, dan kanker. Kulit batang merupakan bagian tumbuhan yang mengandung senyawa fenolat. Fenolat mempunyai sifat redoks yang memungkinkan dapat bertindak sebagai agen pereduksi maupun pendonor hidrogen sehingga senyawa fenolat bersifat antioksidan. Dalam penelitian ini, empat jenis pelarut digunakan untuk partisi ekstrak kulit batang *T. sinensis*. Fraksi-fraksi yang dihasilkan digunakan untuk mempelajari pengaruh pelarut partisi terhadap kandungan fenolat total dan aktivitas antioksidan. Kandungan fenolat total dari fraksi-fraksi ditentukan dengan menggunakan pereaksi Folin Ciocalteu sedangkan aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan uji fosfomolibdenum, penangkap radikal bebas 1,1-difenil-2-picryl hidrazyl (DPPH), mereduksi ion besi dan pemucatann β -karoten. Hasil penelitian menunjukkan bahwa fraksi etilasetat mempunyai kandungan senyawa fenolat paling tinggi ($36,42 \pm 0,05$ mg GAE/g) dan aktivitas antioksidan paling kuat pada uji aktivitas antioksidan total ($34,44 \pm 0,03$ mg AAE/g), penangkal radikal bebas DPPH ($IC_{50} = 35,23$ μ g/mL), mereduksi ion besi ($IC_{50} = 128,55$ μ g/mL) and pemucatan β -karoten (IC_{50} fraksi ($125,62$ μ g/mL). Sebaliknya fraksi *n*-heksan memiliki kandungan senyawa fenolat total paling rendah dan aktivitas antioksidan paling lemah pada semua uji aktivitas antioksidan. Dapat disimpulkan bahwa perbedaan polaritas pelarut partisi mengakibatkan perbedaan kandungan fenolat total maupun aktivitas antioksidannya.

Kata kunci: *Toona sinensis*, pelarut partisi, senyawa fenolat, aktivitas antioksidan

PENDAHULUAN

Toona sinensis (A. Juss.) M. Roem adalah satu jenis tumbuhan dalam keluarga Meliaceae, dan merupakan tumbuhan asli dari Asia bagian timur dan tenggara yang terdistribusi meliputi Korea, Cina, Nepal, India, Myanmar, Thailand, Malaysia, dan Indonesia bagian barat (Edmonds and Staniforth, 1998). Di China, daunnya digunakan sebagai bahan obat tradisional dan obat herbal untuk mengobati beberapa macam penyakit seperti *rheumatoid arthritis*, servisititis, uretritis, ulkus lambung, enteritis, diare, disentri kronis, gatal-gatal dan kanker (Chen *et al.*, 2014). Ekstrak daun *T. sinensis* memiliki beberapa macam aktivitas biologis diantaranya anti-

inflammasi, antioksidan, antidiabetes dan antikanker (Hseu *et al.*, 2011). Namun belum banyak ditemukan laporan penelitian dari bagian kulit batangnya.

Kulit batang adalah bagian tumbuhan yang banyak mengandung senyawa fenolat (Dimitrios, 2006). Fenolat adalah senyawa kimia berasal dari tumbuhan yang terbentuk dari hasil metabolisme asam sikimat dan (atau) dari poliasetil. Struktur molekul dasarnya terdiri dari cincin benzene yang terikat dengan satu gugus hidroksil atau lebih, gugus hidroksil dapat terikat bebas atau terikat dengan gugus lain membentuk ester, eter ataupun gula (Koffiet *al.*, 2010). Fenolat mempunyai sifat redoks yang memungkinkan dapat bertindak sebagai agen pere-

duksi maupun pendonor hidrogen sehingga dapat dikatakan senyawa fenolat mempunyai sifat antioksidan (Ardekani *et al.*, 2011; Ionică *et al.*, 2012).

Antioksidan dapat menghambat atau menghentikan reaksi oksidasi. Oksidasi merupakan reaksi yang dalam prosesnya terjadi perpindahan elektron. Reaksi oksidasi dapat menghasilkan radikal bebas. Radikal bebas akan mengawali terjadinya reaksi berantai dan ketika reaksi itu terjadi pada sel dapat menyebabkan kerusakan sel dan mengakibatkan timbulnya berbagai macam penyakit serius diantaranya kanker, jantung, penuaan dini, serta penyakit degeneratif lainnya (Zhu *et al.*, 2002).

Percobaan pendahuluan yang telah dilakukan menunjukkan bahwa ekstrak metanol kulit batang *T. sinensis* memiliki aktivitas antioksidan lebih kecil bila dibanding dengan kontrol positif (vitamin C). Hal ini disebabkan dalam ekstrak masih bercampur banyak senyawa kimia yang sebagian kemungkinan tidak aktif sebagai antioksidan. Dalam rangka mengisolasi senyawa yang bersifat sebagai antioksidan perlu dilakukan partisi terhadap ekstrak menggunakan beberapa macam pelarut dengan tingkat polaritas berbeda. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pelarut partisi pada kandungan senyawa fenolat dan aktivitas antioksidan yang meliputi aktivitas antioksidan total, aktivitas menangkap radikal bebas DPPH, aktivitas mereduksi ion besi dan aktivitas menghambat pemucatan β -karoten.

BAHAN DAN CARA KERJA

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kulit batang *T. sinensis* berasal dari Gunung Tilu, Kabupaten Bandung, Jawa Barat. Determinasi tumbuhan dilakukan di Herbarium Bogoriense, Bidang Botani, Pusat Penelitian Biologi – LIPI.

Ekstraksi dan partisi

Sebanyak 200 gram serbuk sampel dari kulit batang *T. sinensis* dimaserasi selama 12 jam dengan menggunakan pelarut metanol (500 mL). Kemudian disaring, ampasnya dimaserasi kembali hingga 3 kali. Filtrat digabung selanjutnya dievaporasi dengan menggunakan alat “*Rotary evaporator*” hingga diperoleh ekstrak metanol. Selanjutnya ekstrak metanol dilarutkan dalam akuades kemudian dipartisi dengan menggunakan pelarut dengan tingkat polaritas

yang berbeda, yaitu *n*-heksan, kloroform, etilasetat dan *n*-butanol untuk mendapatkan keempat fraksi tersebut dan residu (air).

Estimasi kandungan fenolat total

Estimasi kandungan senyawa fenolat total dilakukan dengan menggunakan reagen Folin–Ciocalteu (Orak, 2006). Sebanyak 0,1 mL larutan fraksi dengan konsentrasi 100 mg/mL ditambah 7,9 mL akuades dan 0,5 mL reagen Folin–Ciocalteu, dikocok pelan-pelan, diamkan selama 8 menit. Kemudian tambahkan 1,5 mL larutan Na_2CO_3 (20%), dihomogenkan dan diamkan selama 2 jam pada suhu kamar. Ukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 765 nm. Untuk menghitung kandungan fenolat total diperlukan kurva standar asam galat. Kurva standar asam galat dibuat pada variasi konsentrasi (20–100 $\mu\text{g/mL}$) dengan cara yang sama. Percobaan dilakukan 3 kali ulangan. Kadar fenolat dihitung dengan menggunakan persamaan kurva standar dan dinyatakan setara dengan mg asam galat (GAE)/g fraksi.

Aktivitas antioksidan total

Aktivitas antioksidan total diukur dengan menggunakan metode fosfomolibdenum (Prieto *et al.*, 1999). Sebanyak 0,5 mL larutan fraksi (100 $\mu\text{g/mL}$) ditambahkan dalam tabung reaksi yang telah berisi 4,5 mL reagen (0,6 M asam sulfat, 28 mM natrium fosfat dan 4 mM ammonium molybdat). Selanjutnya tabung reaksi diinkubasi pada suhu 95°C selama 90 menit. Setelah dingin (suhu ruang) dibaca absorbansinya pada panjang gelombang 695 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis terhadap kontrol negatif. Kurva kalibrasi asam askorbat (vitamin C) dengan konsentrasi (20-100) $\mu\text{g/mL}$ dibuat dengan cara yang sama. Percobaan ini dilakukan dalam 3 kali ulangan. Aktivitas antioksidan total fraksi dihitung dengan menggunakan persamaan kalibrasi asam askorbat dan dinyatakan setara dengan mg asam askorbat (AAE)/g fraksi.

Aktivitas menangkap radikal bebas DPPH

Aktivitas menangkap radikal bebas dilakukan menurut metode Nishaa *et al.*, (2012) dengan sedikit modifikasi pada penggunaan volume dan konsentrasi DPPH. Sebanyak 1 mL larutan fraksi dalam metanol dengan berbagai konsentrasi (5, 10, 20, 40 dan 60) $\mu\text{g/mL}$ direaksikan dengan 1 mL larutan DPPH (0,5

mM) kemudian ditambah metanol menjadi 5 mL, dihomogenkan kemudian didiamkan selama 30 menit selanjutnya diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum 517 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Percobaan ini dilakukan dalam 3 kali ulangan. Aktivitas menangkap radikal bebas dihitung dengan menggunakan rumus:

Aktivitas menangkap radikal bebas (%) =

$$[1 - A_1/A_0] \times 100$$

A_0 : nilai absorbansi kontrol

A_1 : nilai absorbansi sampel

Nilai IC_{50} merupakan besaran konsentrasi larutan sampel yang dibutuhkan untuk menghambat 50 % radikal DPPH, nilai IC_{50} dihitung dengan menggunakan rumus persamaan garis lurus.

Aktivitas mereduksi ion besi

Aktivitas mereduksi ion besi diukur dengan menggunakan metode Gülçinet *al.* (2007). Sebanyak 1 mL larutan fraksi dengan konsentrasi (50-250) $\mu\text{g}/\text{mL}$, ditambah 2,5 mL larutan bufer fosfat (2M, pH6,6) dan 2,5 mL kalium ferisianida [$\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$] (1%). Larutan campuran diinkubasi pada suhu 50°C selama 20 menit, dinginkan kemudian tambahkan 2,5 mL larutan asam trikloroasetat (10%) dan dipusingkan pada 3000 rpm selama 10 menit. Sebanyak 2,5 mL dari lapisan atas ditambah 2,5 mL akuades dan 0,5 mL larutan FeCl_3 (1%) kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang 700 nm dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Kenaikan absorbansi menunjukkan kenaikan aktivitas mereduksi ion besi. Percobaan dilakukan dalam 3 kali ulangan. Vitamin C digunakan sebagai kontrol positif. Prosentase aktivitas mereduksi dari sampel dibandingkan dengan absorbansi maksimum dari vitamin C dan dihitung dengan menggunakan rumus dari Wang and Li (2011).

Aktivitas mereduksi ion besi (%) =

$$(A_s - A_0)/(A_m - A_0) \times 100$$

A_s : Absorbansi sampel (fraksi)

A_0 : Absorbansi kontrol negatif

A_m : Absorbansi maksimum (vitamin C)

Nilai IC_{50} merupakan besaran konsentrasi larutan sampel yang dibutuhkan untuk mereduksi 50% ion besi, nilai IC_{50} dihitung dengan menggunakan rumus persamaan garis lurus.

Aktivitas menghambat pemucatan β -karoten

Aktivitas menghambat pemucatan asam lino-

leat- β -karoten didasarkan pada metode Maisarah *et al.* (2013). Seberat 5 mg β -karoten dilarutkan dalam 10 mL kloroform, pipet 1 mL masukkan ke dalam labu evaporator kemudian tambahkan 25 μL asam linoleat dan 200 mg tween 20. Setelah kloroform diuapkan menggunakan evaporator, tambahkan 100 mL akuades sedikit demi sedikit diatas stirrer hingga membentuk emulsi. Sebanyak 4 mL larutan emulsi dipipet ke dalam tabung reaksi yang sudah berisi 200 μL larutan sampel (fraksi) dengan konsentrasi (50, 100, 150 dan 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$). Buat dua seri percobaan, seri pertama diukur absorbansinya pada panjang gelombang 470 nm (waktu inkubasi 0 menit) sedangkan seri kedua diinkubasi pada suhu 50°C selama 60 menit baru diukur absorbansinya pada panjang gelombang yang sama. Percobaan dilakukan dalam 3 kali ulangan. Aktivitas menghambat pemucatan asam linoleat- β -karoten dihitung dengan menggunakan rumus:

Aktivitas menghambat pemucatan β -karoten = $[(DR_{\text{control}} - DR_{\text{sample}})/DR_{\text{control}}] \times 100\%$

Degradasi rata-rata (DR) = $\text{Ln}(A_0/A_t)/t$

A_0 = Absorbansi awal (0 menit)

A_t = Absorbansi akhir (60 menit)

t = waktu inkubasi

Nilai IC_{50} merupakan besaran konsentrasi larutan sampel yang dibutuhkan untuk menghambat 50 % pemucatan β -karoten, nilai IC_{50} dihitung dengan menggunakan rumus persamaan garis lurus.

KLT-Bioautografi antioksidan

KLT-bioautografi antioksidan dilakukan untuk mengetahui adanya senyawa antioksidan secara kualitatif (Jothi *et al.*, 2011). Sebanyak 5 μL larutan sampel (fraksi etilasetat) dengan konsentrasi 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ digunakan pada percobaan ini. Pelat lapisan tipis yang digunakan adalah silica gel 60 F_{254} sebagai fasa diam dan campuran metanol: kloroform: asam asetat (10:35:1, v/v/v) sebagai fasa bergerak. Setelah dielusi, pelat lapisan tipis dikeringkan pada suhu ruang kemudian disemprot dengan pereaksi larutan 0,04% DPPH dalam metanol. Penyemprotan juga dilakukan pada pelat lapisan tipis berbeda dengan menggunakan pereaksi Folin-Ciocalteu: akuades (1:10).

HASIL

Ekstraksi dan partisi

Proses ekstraksi yang telah dilakukan pada kulit batang *T. sinensis* menghasilkan ekstrak metanol dengan rendemen 6,07%. Sedangkan proses partisi dari ekstrak metanol menghasilkan fraksi *n*-heksan sebanyak 6,73%, fraksi kloroform (10,22%), fraksi etilasetat (12,22%) dan fraksi *n*-butanol (25,16%) sisanya residu (fraksi air).

Estimasi kandungan fenolat total

Kandungan fenolat total dalam fraksi dihitung dengan menggunakan persamaan kurva kalibrasi dari asam galat $Y=0,0258x + 0,0057$; $R^2 = 0,9998$ dan dinyatakan setara dengan mg asam galat (GAE)/g sampel (fraksi). Terlihat adanya perbedaan kandungan fenolat total pada masing-masing fraksi. Fraksi etilasetat mempunyai kandungan fenolat tertinggi ($36,42 \pm 0,05$ mg GAE/g fraksi) tidak jauh berbeda dengan *n*-butanol ($31,64 \pm 0,11$ mg GAE/g), Sedangkan kandungan fenolat terendah terdapat pada fraksi *n*-heksan dan kloroform sekitar 10 mg GAE/g (Tabel 1).

Aktivitas antioksidan total

Aktivitas antioksidan total dari fraksi dihitung dengan menggunakan persamaan kurva kalibrasi asam askorbat (vitamin C), $Y = 0,0532x + 0,0051$; ($R^2 = 0,9991$) dan dinyatakan setara dengan mg asam askorbat (AAE) /g sampel (fraksi). Hasil yang diperoleh dari percobaan ini menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan total tertinggi terdapat dalam fraksi etilasetat yaitu sebesar $34,44 \pm 0,03$ mg AAE/g dan yang terendah terdapat pada fraksi *n*-heksan $9,78 \pm 0,03$ mg AAE/g (Tabel 1).

Aktivitas menangkap radikal bebas DPPH

Hasil uji aktivitas menangkap radikal bebas DPPH yang telah dilakukan menunjukkan bahwa fraksi etilasetat mempunyai nilai IC_{50} sebesar 35,23 $\mu\text{g/mL}$, ini merupakan nilai IC_{50} yang paling kecil diantara fraksi-fraksi lainnya. Sedangkan fraksi *n*-heksan memiliki nilai IC_{50} paling besar (377,84 $\mu\text{g/mL}$). Hal ini menunjukkan bahwa fraksi etilasetat memiliki aktivitas menangkap radikal DPPH paling besar dan yang paling kecil adalah fraksi *n*-heksan (Gambar 1). Nilai aktivitas menangkap radikal DPPH pada gambar 1 merupakan rerata dari 3 kali ulangan.

Aktivitas mereduksi ion besi

Hasil uji aktivitas mereduksi ion besi (Fe^{3+} menjadi Fe^{2+}) terlihat pada gambar 2. Fraksi etilasetat memiliki aktivitas mereduksi ion paling tinggi yang ditunjukkan oleh nilai IC_{50} nya paling rendah (128,55 $\mu\text{g/mL}$). Sebaliknya fraksi *n*-heksan memiliki aktivitas mereduksi ion besi paling rendah terlihat dari nilai IC_{50} (724,59 $\mu\text{g/mL}$) fraksi paling tinggi dibandingkan fraksi-fraksi yang lain. Nilai aktivitas mereduksi ion besi pada gambar 2 merupakan rerata dari 3 kali ulangan.

Aktivitas menghambat pemucatan β -karoten

Hasil penelitian menunjukkan bahwa fraksi etilasetat memiliki kemampuan menghambat pemucatan β -karoten paling tinggi dibandingkan fraksi-fraksi yang lain, ini dicirikan oleh nilai IC_{50} fraksi (125,62 $\mu\text{g/mL}$) paling kecil. Sedangkan fraksi *n*-heksan memiliki kemampuan paling kecil yang dici-

Tabel 1. Kandungan fenolat total dan aktivitas antioksidan total fraksi-fraksi ekstrak *T. sinensis*. (Total phenolic content and total antioxidant activity of fractions of *T. sinensis* extract)

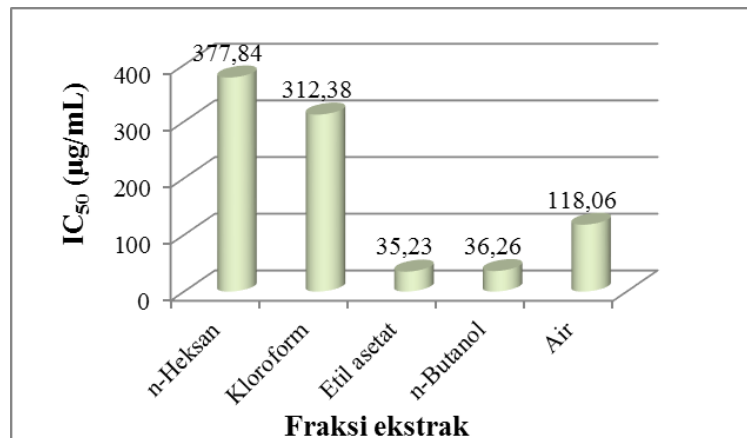
Fraksi ekstrak (Soluble Fractions)	Kandungan Fenolat (Phenolate content) (mg GAE/g fraksi)	Aktivitas Antioksidan Total (Total antioxidant activity) (mg AAE/g fraksi)
<i>n</i> -Heksana	$10,06 \pm 0,11$	$9,78 \pm 0,03$
Kloroform	$10,16 \pm 0,02$	$12,14 \pm 0,07$
Etilasetat	$36,42 \pm 0,05$	$34,44 \pm 0,03$
<i>n</i> -Butanol	$31,64 \pm 0,11$	$30,61 \pm 0,04$
Air(water)	$20,98 \pm 0,05$	$20,75 \pm 1,85$

Keterangan: Nilai kandungan fenolat total dan aktivitas antioksidan total merupakan rerata \pm SD

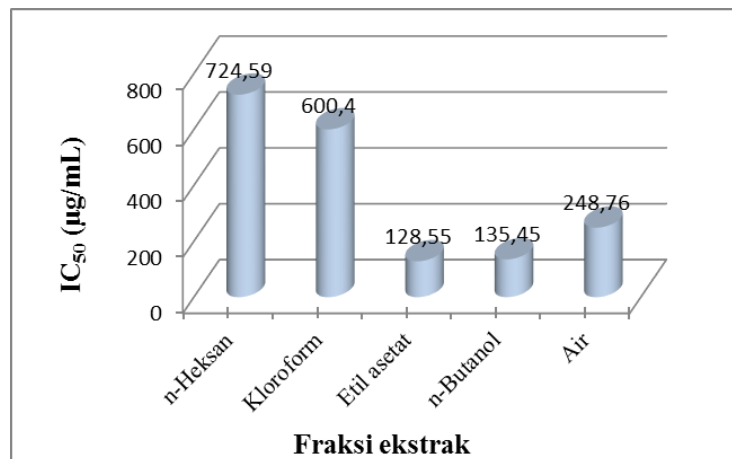
GAE = Gallic acid equivalent

AAE = Ascorbic acid equivalent

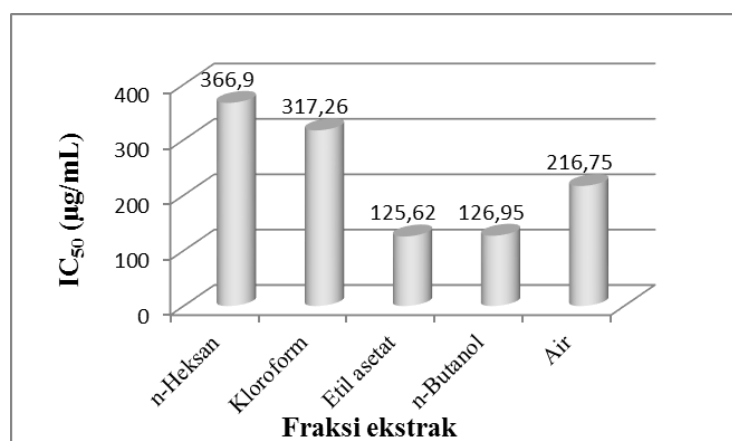
Remarks: The value of total phenol content and total antioxidant activity are mean \pm SD



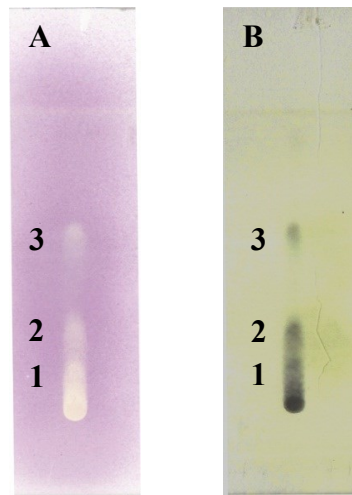
Gambar 1. Aktivitas menangkap radikal bebas DPPH dari fraksi-fraksi ekstrak *T.sinensis* (*DPPH free radical scavenging activity of fractions of the T.sinensis extract*)



Gambar 2. Aktivitas mereduksi ion besi dari fraksi-fraksi ekstrak *T.sinensis* (*Ferri reducing power activity of fractions of the T. sinensis extract*)



Gambar 3. Aktivitas menghambat pemucatan β -karotendari fraksi-fraksi ekstrak *T.sinensis* (*Inhibition of β -carotene bleaching activity by different fractions derived from T. sinensis extract*)



Gambar 4. Kromatogram lapisan tipis senyawa antioksidan dan fenolat fraksi etilasetat, (A) noda senyawa antioksidan setelah disemprot dengan pereaksi 0,04% DPPH dalam metanol, (B) noda senyawa fenolat setelah disemprot dengan pereaksi Folin-Ciocalteu. (*Thin-layer chromatogram of antioxidant and phenolic compounds of ethyl acetate fraction, (A) stain antioxidant compound after being sprayed with reagent 0.04% DPPH in methanol, (B) phenolic compound stain after being sprayed with the Folin-Ciocalteu agent*)

rikan nilai IC_{50} fraksi *n*-heksan paling besar 366,90 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (Gambar 3). Nilai aktivitas menghambat pemucatan β -karoten pada gambar 3 merupakan rerata dari 3 kali ulangan.

KLT-Bioautografi antioksidan

Pola kromatogram hasil KLT-bioautografi dapat dilihat pada kromatogram lapis tipis A dan B. Kromatogram A memperlihatkan minimal terdapat 3 noda berwarna kuning, ini menunjukkan ada 3 senyawa bersifat antioksidan dalam fraksi etilasetat. Demikian pula kromatogram B memperlihatkan 3 noda berwarna biru tua, ini memberi indikasi bahwa noda berwarna biru tua tersebut adalah senyawa fenolat (Gambar 4).

PEMBAHASAN

Pemilihan pelarut merupakan langkah yang cukup penting dalam upaya mengisolasi senyawa target. Suatu pelarut polar akan mengisolasi senyawa polar sebaliknya pelarut non-polar mengisolasi senyawa non-polar sehingga penggunaan pelarut yang berbeda akan menghasilkan fraksi dengan komposisi kimia yang berbeda (Nur Syukriah *et al.*, 2014). Pada penelitian ini proses partisi dilakukan dengan menggunakan pelarut *n*-heksan, kloroform, etilasetat, *n*-butanol dan air yang mempunyai tingkat polaritas berbeda dan menghasilkan fraksi *n*-heksan, kloro-

form, etil asetat, *n*-butanol dan fraksi air dengan rendaman yang berbeda.

Estimasi kandungan fenolat total pada fraksi-fraksi dilakukan dengan menggunakan pereaksi Folin-Ciocalteu yang kerjanya didasarkan pada reaksi oksidasi fenolat oleh *molybdotungstate* (reagen Folin-Ciocalteu) menghasilkan senyawa berwarna biru dengan panjang gelombang maksimum 765 nm (Regina *et al.*, 2008). Tabel 1 memperlihatkan bahwa fraksi etilasetat dan *n*-butanol memiliki kandungan fenolat jauh lebih tinggi dibanding pelarut *n*-heksan, kloroform maupun air. Tergambar dengan jelas perbedaan polaritas pelarut mempengaruhi kandungan fenolat dan kemungkinan besar mempengaruhi komposisi kimia pada fraksi-fraksi yang dihasilkannya.

Terlihat ada keterkaitan antara kandungan fenolat dengan aktivitas antioksidan. Fraksi etilasetat dan *n*-butanol mempunyai kandungan fenolat jauh lebih tinggi dibanding fraksi lainnya. Kedua fraksi tersebut juga memperlihatkan aktivitas antioksidan yang jauh lebih tinggi dibanding fraksi-fraksi yang lain pada empat metode uji yang berbeda (aktivitas antioksidan total, aktivitas menangkap radikal bebas (DPPH), aktivitas mereduksi ion besi dan aktivitas menghambat pemucatan β -karoten). Demikian pula sebaliknya fraksi *n*-heksan memiliki kandungan

fenolat paling kecil, aktivitas antioksidannya pun juga paling kecil. Beberapa laporan menyebutkan bahwa ada korelasi langsung antara jumlah kandungan fenolat dengan aktivitas antioksidan (Supardy *et al.*, 2011; Kaneria *et al.*, 2012; Hemali and Sumitra, 2014).

Pola kromatogram hasil KLT-bioautografi fraksi etilasetat memperjelas adanya korelasi antara aktivitas antioksidan dan senyawa fenolat. Pola kromatogram A sama dengan B yang memperlihatkan 3 noda dengan posisi relatif sama. Noda berwarna kuning pada kromatogram A menunjukkan bahwa noda tersebut adalah senyawa antioksidan yang muncul setelah disemprot dengan pereaksi DPPH. Gejala yang sama terjadi pada kromatogram B, noda berwarna biru tua yang muncul setelah disemprot dengan pereaksi Folin-Ciocalteu menunjukkan bahwa noda tersebut adalah senyawa fenolat.

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa, etilasetat merupakan pelarut partisi paling baik dibanding pelarut yang lain. Tercermin dari hasil partisi, fraksi etilasetat memiliki kandungan fenolat paling tinggi ($36,42 \pm 0,05$ mg GAE/g) dan aktivitas antioksidan paling kuat pada uji aktivitas antioksidan total ($34,44 \pm 0,03$ mg AAE/g), penangkal radikal bebas DPPH ($IC_{50} = 35,23$ μ g/mL), mereduksi ion besi ($IC_{50} = 128,55$ μ g/mL) and pemucatan β -karoten (IC_{50} fraksi ($125,62$ μ g/mL).

Pola kromatogram hasil KLT-bioautografi memperlihatkan bahwa secara kualitatif fraksi etilasetat mengandung 3 senyawa fenolat yang bersifat antioksidan.

DAFTAR PUSTAKA

- Ardekani M R S, M Hajimahmoodia, M R Oveisi, N Sadeghi, B Jannat, A M Ranjbara, N Gholamb and T Moridi. 2011. Comparative Antioxidant Activity and Total Flavonoid Content of Persian Pomegranate (*Punica granatum* L.) Cultivars. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research* 10 (3), 519-524.
- Chen C, Z Tong, D Liao, Y Li, G Yang and M Li. 2014. Chemical Composition and Antimicrobial and DPPH Scavenging Activity of Essential Oil of *Toona sinensis* (A. Juss.) Roem from China. *BioResources* 9(3), 5262-5278.
- Dimitrios B. 2006. Sources of natural phenolic antioxidants. *Trends In Food Science and Technology* 7, 505-512.
- Edmonds JM and M Staniforth. 1998. *Toona sinensis*: Meliaceae. *Curtis's Botanical Magazine* 15, 186-193.
- Gülçin I, R Elias, A Gepdiremen, L Boyer and E Köksal. 2007. A comparative study on the antioxidant activity of fringe tree (*Chionanthus virginicus* L) extracts. *African Journal of Biotechnology* 6(4), 410-418.
- Hemali P and C Sumitra. 2014. Evaluation of antioxidant efficacy of different fractions of *Tagetes erecta* L. Flowers. *Journal of Pharmacy and Biological Sciences* 9(5), 28-37.
- Hseu YC, SC Chen, WH Lin, DZ Hung, MK Lin, YH Kuoe, MT Wang, HJ Cho, L Wang and HL Yang. 2011. *Toona sinensis* (leaf extracts) inhibit vascular endothelial growth factor (VEGF) – induced angiogenesis in vascular endothelial cells. *Journal of Ethnopharmacology*, 134(1), 111-121;
- Ionică M E, V Nour and I Trandafir. 2012. Polyphenol content and antioxidant capacity of Goji fruits (*Lycium chinense*) as affected by the extraction solvents. *South Western Journal of Horticulture, Biology and Environment* 3(2), 121-129.
- Jothy S L, Z Zuraini and S Sasidharan. 2011. Phytochemicals screening, DPPH free radical scavenging and xanthine oxidase inhibitory activities of *Cassia fistula* seeds extract. *Journal of Medicinal Plants Research* 5(10), 1941-1947.
- Kaneria M, M Bapodara, S Chanda. 2012. Effect of extraction techniques and solvents on antioxidant activity of pomegranate (*Punica granatum* L.) leaf and stem. *Food Analytical Methods* 5, 396-404.
- Koffi E, T Sea, Y Dodehe and S Soro. 2010. Effect of solvent type on extraction of polyphenols from twenty three Ivorian plants. *Journal of Animal and Plant Sciences* 5 (3), 550-558.
- Maisarah A M, A B Nurul, R Asmah and O Fauziah. 2013. Antioxidant analysis of different parts of *Carica papaya*. *International Food Research Journal* 20(3), 1043-1048.
- Nishaa S, M Vishnupriya, JM Sasikumar, HP Christabel, VK Gopalakrishnan. 2012. Antioxidant Activity of Ethanol Extract of *Maranta arundinacea* L Tuberous Rhizomes. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research* 5(4), 85-88.
- Nur Syukriah A R, M S Liza, Y Harisun and A A M Fadzillah. 2014. Effect of solvent extraction on antioxidant and antibacterial activities from *Quercus infectoria* (Manjakani). *International Food Research Journal* 21(3), 1067-1073.
- Orak HH. 2006. Total antioxidant activities, phenolics, anthocyanins, poly-phenoloxidase activities in red grape varieties. *Electronic Journal of Polish Agricultural Universities, Food Science and Technology* 9(1), 118.
- Prieto P, M Pineda and M Aguilar. 1999. "Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex : specific application to the determination of vitamin E". *Analytical Biochemistry* 269 (2), 337-341.
- Regina A, Y Lisnawati dan Maimunah. 2008. Penentuan Aktivitas Antioksidan, Kadar Fenolat Total dan Likopen pada Buah Tomat. *Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi*, 13(1): 1-9.
- Supardy N A, D Ibrahim, S F Sulaiman and N A Zakaria. 2011. Free Radical Scavenging Activity, Total Phenolic Content and Toxicity Level of *Halimeda discoidea* (Decaisne) Extracts (Malaysia's Green Macroalgae). *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* 3(5), 397-402.
- Wang L and X Li. 2011. Antioxidant Activity of Durian (*Durio zibethinus* Murr.) Shell In vitro. *Asian Journal Pharmaceutical and Biology Research* 1(4), 542-551.
- Zhu Q Y, R M Hackman, J L Ensuna, R R Holt and C L Keen. 2002. Antioxidative Activities of Oolong Tea. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50, 6929-6934.