

**Kandungan Fenol, Flavonoid Total, dan Aktivitas Antioksidan Sediaan
Infusa dan *Freeze-dried Infusa* Tanaman *Plocoglottis lowii* Rchb.f.**

**Total Phenolic Content, Total Flavonoid Content, and Antioxidant
Activity of Water Extract and *Freeze-dried* Water Extract of
Plocoglottis lowii Rchb.f. Leaves**

Pratiwi Apridamayanti^{1*}, dan Sigit Normagiat²

¹*Prodi Farmasi, Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura
Jl. Profesor Dokter Haji Hadari Nawawi, Pontianak 78124, Indonesia*

²*Prodi Agrotek, Fakultas Pertanian, Universitas Nahdlatul Ulama
Jln. Parit Derabak, Ahmad Yani II, Pontianak 78391, Indonesia*

*Corresponding author email: apridamayanti.pratiwi@gmail.com

Received 10-10-2020 Accepted 19-06-2021 Available online 04-10-2021

ABSTRAK

Keragaman spesies anggrek di hutan tropis Indonesia sangat melimpah, salah satunya tanaman *Plocoglottis lowii* Rchb.f. yang terdapat di daerah Sanggau, Kalimantan Barat. Penggunaan oleh masyarakat lokal sebagai minuman obat tradisional. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan fenol dan flavonoid total serta aktivitas antioksidan pada tanaman tersebut. Sejumlah 10 ml infusa dilakukan uji senyawa fenol dan flavonoid total menggunakan metode Chun, diukur secara spektrofotometer UV/Vis, kemudian dilanjutkan dengan uji aktivitas antioksidan (IC₅₀) dengan menggunakan metode DPPH dan sebanyak 10 mg *freeze dried* infusa (FDI) dilakukan uji senyawa fenol dan flavonoid total menggunakan metode Chun, diukur secara spektrofotometer UV/Vis, kemudian dilanjutkan dengan uji aktivitas antioksidan (IC₅₀) dengan menggunakan metode DPPH. Hasil yang diperoleh kandungan flavonoid total infusa sebesar 2,462±0,05%b/b *Quarcetin Equivalent* (QE), 19,220±0,38%b/b *Rutin Equivalent* (RE) *Freeze-dried infusa* (FDI) sebesar 1,389±0,44%b/b QE, 15,024±3,26% RE. Kandungan fenol total infusa sebesar 19,578±0,42%b/b Asam Galat Equivalent (AGE) dan *Freeze-dried infusa* (FDI) sebesar 38,538±1,25%b/b AGE. Aktivitas antioksidan (IC₅₀) yang dimiliki oleh infusa dan FDI adalah 59,493±0,42 ppm dan 27,310±1,25 ppm dan termasuk dalam kategori kuat dan sangat kuat.

Kata kunci: *Plocoglotis lowii*, fenol total dan flavonoid total, IC₅₀

ABSTRACT

*The diversity of orchid species in Indonesia's tropical forests is very high, including the orchid species *Plocoglottis lowii* Rchb.f. originating from Sanggau district, West Kalimantan. *P. lowii* is used by the local community as herbal drinks. This study conducted to determine the total phenol, total flavonoid content and antioxidant activity contained in *P. lowii*. Total phenolic and total flavonoid examined using a Chun methods subjected to 10 ml water extract and 10 mg freeze dried water extract, measured using UV/Vis spectrophotometer and tested antioxidant activity (IC_{50}) with DPPH method. The results showed that the total flavonoid content of water extract was $2.462 \pm 0.05\%$ w/w Quercetin Equivalent (QE), $19.220 \pm 0.38\%$ w/w Rutin Equivalent (RE). Freeze-dried water extract (FDI) was $1.389 \pm 0.44\%$ w/w QE and $15,024 \pm 3.26\%$ RE. The total phenol content of water extract was $19.578 \pm 0.42\%$ w/w Gallic Acid Equivalent (GAE) and FDI was $38.538 \pm 1.25\%$ w/w GAE. The antioxidant activity (IC_{50}) of water extract and FDI was $59,493 \pm 0,42$ ppm and $27,310 \pm 1,25$ ppm, which was in the category of strong and very strong antioxidant activity, respectively.*

Key words: IC_{50} , *Plocoglotis lowii*, total phenol and total flavonoid

Pendahuluan

Keanekaragaman anggrek di Kalimantan Barat diantaranya tercatat di Kecamatan Tayan Kabupaten Sanggau Kalimantan Barat setidaknya terdapat 10 jenis anggrek, dua diantaranya adalah anggrek terrestrial (Amalia et al., 2015). Bahkan keanekaragaman anggrek alam yang lebih tinggi ditemukan di Kabupaten Sintang, 40 jenis anggrek yang tergolong dalam 27 marga, 32 jenis berupa anggrek epifit dan 8 jenis berupa anggrek terrestrial (Ariyanti & Pa'i, 2008).

Diantara keragaman anggrek yang ada di Kabupaten Sanggau, Kalimantan Barat, terdapat spesies anggrek *Plocoglottis lowii* Rchb.f. yang dikenal oleh masyarakat melayu dengan nama lokal daun penawar racun, sedangkan masyarakat dayak mengenalnya dengan sebutan daun

merah. Secara empirik penggunaan spesies tersebut adalah untuk memperlancar aliran darah, menghentikan pendarahan, mempercepat penyembuhan luka dan luka bakar serta mengobati penyakit TBC dan bronchitis, sedangkan menurut wawancara terhadap penyehat tradisional (hatra) etnis melayu daerah sanggau digunakan sebagai obat untuk detoksifikasi organ paru dan hati. *P. lowii*. ini tergolong kedalam kelompok anggrek terrestrial. Memiliki ciri yang khas berupa daunnya yang berwarna hijau keunguan. *P. lowii* tumbuh pada habitat dengan tutupan serasah yang tebal di hutan sekunder perbukitan (Normagiat et al., 2018). Belum ada data yang menunjukkan anggrek jenis ini tumbuh di kabupaten lain di Kalimantan Barat.

Saat ini penggunaan tumbuhan *P. lowii* digunakan sebagai tumbuhan

obat tradisional merupakan hal baru, belum ada publikasi yang membahas tentang spesies tersebut sebagai herbal. Kondisi ini membuka peluang penelitian untuk mempelajari zat aktif yang terkandung pada tumbuhan asli Kalimantan Barat tersebut. Hasil penelitian diperlukan sebagai landasan ilmiah tentang penggunaan bahan obat agar tepat sasaran dan aman untuk digunakan. Pada penelitian ini dilakukan uji kandungan senyawa fenol dan flavonoid total dengan senyawa pembanding rutin dan quarcetin untuk flavonoid total; asam galat untuk fenol total serta aktivitas antioksidan (IC_{50}) dengan metode DPPH menggunakan spektrofotometer UV/Vis.

Potensi obat alam khususnya yang berasal dari hutan Kalimantan Barat perlu terus dikembangkan. Pengetahuan terhadap khasiat tanaman obat akan memberikan keuntungan dari aspek konservasi dan ekonomi. Dikenal pendekatan "*conservation through use*" dimana ketika masyarakat memanfaatkan tumbuhan alam maka mereka akan tetap menjaga aset tumbuhan obat alam tersebut. Tidak menutup kemungkinan dari hasil penelitian yang telah diketahui kandungan senyawa fenol dan flavonoid serta aktivitas antioksidan yang ada di dalam tumbuhan *P. lowii* Rchb.f nantinya dapat menjadi dasar ilmiah penelusuran aktivitas farmakologis lainnya.

Metode Penelitian

Alat dan Bahan

Alat-alat gelas (Iwaki Pyrex®), *hot plate* (HP 10-2), mikropipet 100 μ l dan 1000 μ l, oven (Mammert®), spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu UV-2450), timbangan analitik (Ohaus®), Kuvet (Kuarsa Hellma®) Freeze-dryer (LABCONCO*- FreeZone 2.5).

Infusa dan *freeze-dried infusa* (FDI) daun penawar racun, aquadest (Wida), DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) (Merck), folin Ciocalteau (Merck), Kuersetin (Merck), Rutin (Merck), Asam Galat (Merck), $AlCl_3$ (Merck), Na_2CO_3 (Merck).

Jalannya Penelitian

1. Persiapan sampel

Daun penawar racun yang diperoleh di Kelurahan Bunut, Kecamatan Kapuas, Kabupaten Sanggau. Determinasi dilakukan oleh LIPI Pusat Penelitian Biologi No:679/IPH.1.01/If.07/III/2018 Daun dibersihkan, sortasi basah, dicuci pada air mengalir dan kemudian dikeringkan. Simplisia yang sudah kering kemudian dihaluskan dan diayak dengan ayakan No.40. Infusa daun penawar racun dibuat dengan cara menimbang sebanyak 5 g serbuk simplisia ditambahkan sebanyak 100 mL aquadest sehingga diperoleh konsentrasi larutan 5%. Kemudian larutan dipanaskan selama 15 menit terhitung pada suhu 90°C kemudian air rebusan didinginkan pada suhu ruang dan disaring diperoleh infusa daun penawar racun. *Freeze-dried infusa* daun penawar racun dibuat dengan cara hasil infusa daun penawar racun

sebanyak 95 ml dilakukan pengurangan pelarut (aquadest) dengan cara kering beku dengan bantuan alat *Freeze dryer* sehingga diperoleh serbuk *freeze-dried infusa* (FDI).

2. Pengukuran fenol dan flavonoid total
Pengukuran kandungan fenol total dengan menggunakan larutan Folin-Ciocalteu dengan menggunakan metode Chun *et al.*, 2003 dengan larutan pembanding adalah asam galat. Sebanyak 10 ml infusa dan 10 mg FDI daun penawar racun digunakan sebagai sampel, kemudian dilarutkan dalam 10 ml aquadest digunakan sebagai sampel. Sebanyak 1 mL larutan sampel diambil dan ditambahkan 2 ml Na_2CO_3 , 0,5 ml pereaksi follin ciocalteu dilarutkan sebanyak 5 ml dan diinkubasi selama 5 menit pada suhu 50°C , kemudian diukur dengan spektrofotometer UV/Vis pada $\lambda = 757 \text{ nm}$. Nilai fenol total dinyatakan dalam persen (%) b/b Asam Galat Ekvale (AGE).

Pengukuran flavonoid total menggunakan sebanyak 25 mL infusa dan 25 mg FDI sebagai sampel. Pembanding yang digunakan pada penelitian ini adalah senyawa kuarsetin dan rutin menggunakan metode Chang dan Wen (2002). Sebanyak 1 ml larutan sampel kemudian ditambahkan 0,1 ml AlCl_3 10% dan 0,1 ml Na-asetat 1M kemudian diinkubasi selama 30 menit dan diukur dengan spektrofotometer UV/Vis pada $\lambda_{\text{max}} =$

434 nm untuk senyawa asam galat dan $\lambda_{\text{max}} = 509,5 \text{ nm}$ untuk senyawa rutin, nilai flavonoid total dinyatakan dalam persen (%) b/b Quarcetin Equivalent (QE) dan Rutin Equivalent (RE).

3. Uji aktivitas antioksidan

Pengujian aktivitas antioksidan dengan menggunakan senyawa 2,2'-diphenyl-1-picrilhydrazil picrylhydrazyl (DPPH) diukur dengan spektrofotometer pada $\lambda = 517$. DPPH dengan konsentrasi 40 ppm sebanyak 4 ml direaksikan dengan 1 ml sampel dengan 5 seri konsentrasi yang berbeda dan diinkubasi selama 30 menit. Persentase aktivitas antioksidan dinyatakan dalam nilai IC_{50} .

Analisis Data

Data yang ditampilkan dalam bentuk replikasi sebanyak 3 kali dan dinyatakan dalam rata-rata $\pm$ standar deviasi. Hasil pengukuran kemudian dimasukkan kedalam SPSS dan dilakukan uji t untuk melihat terjadinya perbedaan perlakuan yang dilakukan.

Hasil dan Pembahasan

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui khasiat tanaman obat dengan menggunakan tanaman daun *p.lowii* oleh masyarakat Suku Melayu dan Dayak di Kabupaten Sanggau, yang digunakan didalam ramuan pengobatan oleh penyehat tradisional (Hatra) setempat yaitu sebagai detoksifikasi organ paru dan hati.

Menurut hasil pengujian yang dilakukan yaitu kandungan Fenol total

dan Flavonoid total dapat dilihat pada Tabel 1.

Pengujian fenol dan flavonoid total dilakukan untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder yang terdapat pada infusa daun penawar racun. Infusa merupakan sediaan cair dengan cara menyari simplisia nabati dengan air pada suhu 90°C selama 15 menit (Syamsuni, 2006). Sediaan infusa merupakan salah satu penyarian untuk memperoleh senyawa yang larut dalam pelarut polar. Senyawa fenol dan flavonoid merupakan senyawa yang memiliki aglikon sehingga dapat larut dalam pelarut polar seperti air.

Prinsip reaksi pada penetapan kadar fenol dengan metode Folin Ciocalteu adalah ion fenolat akan mereduksi asam fosfomolibdat-fosfotungstat (reagen folin ciocalteu) dalam kondisi basa sehingga terbentuk senyawa kompleks *molybdenum-tungsten* yang memberikan warna biru. Ion fenolat akan terbentuk dalam kondisi yang basa melalui disosiasi proton dari suatu senyawa alkali yaitu natrium karbonat. Pada Tabel 1 diketahui kandungan senyawa fenol yang terdapat pada sediaan Infusa (I) dan *Freeze-dried infusa* (FDI) dengan menggunakan persamaan kurva baku asam galat yaitu $y = 0,0126x + 0,0014$ dengan nilai $R = 0,999$ sehingga diketahui nilai fenol total (I) = $19,578 \pm 0,42$ (%) dan (FDI) = $38,538 \pm 1,25$ (%), menurut pengujian SPSS dengan uji t pada taraf kepercayaan 95% diketahui t hitung $< 0,05$ sehingga diambil kesimpulan bahwa hasil pengukuran

kandungan fenol total antara sediaan (I) dan (FDI) berbeda signifikan artinya perbedaan perlakuan dalam cara perolehan sediaan melalui cara (I) dengan (FDI) memberikan hasil pengukuran fenol total yang berbeda.

Penentuan kadar flavonoid total pada ekstrak menggunakan metode Chang. Prinsip dari metode ini adalah pembentukan kompleks yang stabil antara $AlCl_3$ dengan C-4 gugus keton, serta dengan C-3 atau C-5 gugus hidroksil dari flavon dan flavonol. Aluminium klorida juga membentuk kompleks asam yang stabil dengan gugus ortodihidroksil pada cincin A atau B dari senyawa flavonoid (Chang dan When, 2002). Penentuan kadar flavonoid total menggunakan senyawa pembanding yaitu kuersetin dan rutin. Metode (Chang dan When, 2002) menggunakan pereaksi aluminium klorida dan natrium asetat. Aluminium klorida dapat membentuk kompleks yang lebih stabil dengan golongan flavon dan flavonol (Mabry et al., 1970). Persentase flavonoid total yang diperoleh tersebut dapat menyatakan persentase golongan flavon dan flavonol yang terdapat didalam infusa dan FDI daun penawar racun.

Menurut Tabel 1 diperoleh kandungan flavonoid total (I) sebesar $2,462 \pm 0,05$ (%) b/b dan $19,220 \pm 0,38$ (%) b/b dan (FDI) sebesar $1,389 \pm 0,44$ (%) b/b dan $15,024 \pm 3,26$ (%) b/b dengan pembanding kuarcetin dan rutin. Menurut hasil pengujian SPSS dengan menggunakan uji t pada taraf kepercayaan 95% dimana t hitung $>$

0,05 dapat diketahui pada sediaan (I) dan (FDI) memberikan hasil uji yang tidak berbeda signifikan. Persamaan kurva baku senyawa kuersetin adalah $y = 0,036x - 0,027$ dan nilai $R = 0,998$. Sedangkan persamaan baku rutin adalah $y = 0,0048x - 0,0455$ dan nilai $R = 0,997$ (Desnita *et al.*, 2018). Kuersetin merupakan senyawa aglikon flavonoid yang termasuk dalam golongan flavonol dan Rutin merupakan senyawa glikon flavonoid yang termasuk golongan flavonol sehingga dapat diketahui pada sediaan I dan FDI daun penawar racun mengandung senyawa yang diprediksikan mengandung senyawa flavonoid dengan golongan flavonol dimana jumlah equivalensi senyawa flavonol dapat dipresentasikan dari hasil perhitungan jumlah quarcetin dan rutin yang diperoleh. Kandungan aglikon dan glikon tercermin dari jumlah quarcetin dan rutin. Dari hasil penelitian yang diperoleh senyawa dalam bentuk glikosida yang terikat dengan disakarida rutin lebih besar dibanding senyawa dalam bentuk aglikon flavonoid quarcetin dapat dilihat pada Tabel 1.

Penentuan aktivitas antioksidan dapat dilihat pada Tabel 2. Menurut Tabel 2 tersebut nilai IC_{50} yang diperoleh sebesar $59,493 \pm 0,42 \mu\text{g/ml}$ dan $27,310 \pm 1,25 \mu\text{g/ml}$ untuk Infusa (I) dan *Freeze-dried* Infusa (FDI). Pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH dimana sampel dapat diaplikasikan dengan DPPH langsung, tanpa memerlukan penambahan senyawa atau pereaksi lainnya, kemudian dihubungkan dengan menggunakan kurva linearitas antara konsentrasi senyawa antioksidan dengan penurunan absorbansi sehingga diperoleh persamaan regresi yaitu $Y = 0,184x + 38,106$ (I) dan $Y = 0,258x + 42,286$ (FDI). Hasil uji dengan menggunakan SPSS pada uji t dengan taraf kepercayaan 95% diketahui bahwa nilai IC_{50} pada sediaan (I) dan (FDI) memiliki nilai t hitung $< 0,05$ diperoleh bahwa kedua sediaan tersebut memiliki nilai aktivitas antioksidan yang berbeda signifikan. Kategori aktivitas antioksidan pada sediaan (I) dan (FDI) daun angrek penawar racun adalah kuat dan sangat kuat (Blois., 1958).

Tabel 1. Kandungan fenol dan flavonoid total infusa dan *freeze-dried* infusa daun penawar racun

Nama sampel	Kadar fenol total (% AGE)	Kadar flavonoid total	
		Kuarcetin (% QE)	Rutin (% RE)
Infusa (I)	$19,578 \pm 0,42$	$2,462 \pm 0,05$	$19,220 \pm 0,38$
<i>Freeze-dried infusa</i> (FDI)	$38,538 \pm 1,25$	$1,389 \pm 0,44$	$15,024 \pm 3,26$

Tabel 2. Aktivitas antioksidan infusa dan *freeze-dried* infusa daun penawar racun

Nama sampel	Kurva regresi	Koefisien korelasi	IC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)
Infusa (I)	$Y = 0,184x + 38,106$	0,998	$59,493 \pm 0,42$
<i>Freeze-dried infusa</i> (FDI)	$Y = 0,258x + 42,286$	0,987	$27,310 \pm 1,25$

Menurut penelitian Riski et al. (2013) yang melakukan uji aktivitas antioksidan terhadap organ vegetatif angrek merpati (*Dendrobium rumenatum* Swartz) diketahui pada bagian daunnya memiliki nilai IC_{50} sebesar $33,51 \pm 1,5$ (%). Menurut penelitian Yuliani et al., 2015 tentang uji aktivitas infusa daun kelor memiliki aktivitas IC_{50} sebesar 2151,33 ppm dan aktivitas antioksidan infusa daun ungu telah diteliti oleh Salim., 2018 diketahui IC_{50} sebesar 125,09 ppm dan aktivitas vitamin C sebagai antioksidan dengan nilai IC_{50} sebesar 13,22 ppm. Menurut hasil uji aktivitas antioksidan (I) dan (FDI) daun penawar racun dapat diketahui nilai IC_{50} vitamin C 4,5 kali dan 2 kali lebih besar dibandingkan dengan sediaan infusa dan *freeze-dried* infusa daun penawar racun.

Kesimpulan

Hasil pengukuran yang diperoleh dari penelitian ini adalah kandungan flavonoid total infusa adalah $2,462 \pm 0,05$ % b/b QE dan $19,220 \pm 0,38$ % b/b RE. Kandungan flavonoid total FDI adalah $1,389 \pm 0,44$ % b/b QE dan $15,024 \pm 3,26$ % RE. Kandungan fenol total infusa sebesar $19,578 \pm 0,42$ % b/b AGE dan FDI sebesar $38,538 \pm 1,25$ % b/b AGE. Aktivitas antioksidan (IC_{50}) yang dimiliki oleh infusa dan FDI adalah masing-masing sebesar $59,493 \pm 0,42$ dan $27,310 \pm 1,25$ ppm, yang termasuk dalam kategori kuat dan sangat kuat.

Daftar Pustaka

- Amalia, R., Lovadi, I., Linda, R., & Bahan, A. (2015). Kekayaan Jenis Anggrek di Hutan Alam Desa Beginjan Kecamatan Tayan Hilir Kabupaten Sanggau. *Protobiont*, 4(1), 170–177.
- Ariyanti, E. E., & Pa'i. (2008). Orchids inventory in Sintang Regency, West Kalimantan. *Biodiversitas, Journal of Biological Diversity*, 9(1), 21–24.
- Blois MS. Antioxidant Determinations by the Use of a Stable Free Radical, *Nature*. 1958: 1199-2000.
- Chang CM, and When H. 2002. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary spectrophotometer UV-Vis methods. *J Food Drugs. Annal England*.
- Chun, O. K., Kim, D.O. and Lee, C. Y. 2003. Superoxide radical scavenging activity of the major polyphenols in fresh plums. *J. Agric. Food Chem.* 52: 8067-8072.
- Desnita, R. Luliana, S. Martien, R. dan Nurrochmad. 2018. Formulation Span 40 Niosome of Aqueous Fraction Meniran (*Phyllanthus niruri*, L.). *EJBPS* .5(11);44-48.
- Mabry, T.J. Markham KR, and Thomas MB. (1970). The systematic identification of flavonoids. New York: Springer-Verlag.
- Normagiat, S., Harfinda, E. M., & Sudirman. (2018). Sebaran Spasial dan Karakteristik Habitat Anggrek Tanah (*Plocoglottis lowii* Rchb.f.) Tumbuhan Obat Penawar Racun Habitat Asal Sanggau Kalimantan Barat. *Agriovet*, 1(1), 37–50.

- Riski, T. dan Purwesti, Y.A. (2013). Aktivitas Antioksidan dan Karakter Anatomi Organ Vegetative Angrek Merpati (*Dendrobium crumenatum* Swartz). [Tesis]. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Salim, R. (2018). Uji aktivitas antioksidan infusa daun ungu dengan metode DPPH. Jurnal Katalisator. 3(2); 153-161.
- Swarts, N. D. (2008). Integrated conservation of the rare and endangered terrestrial orchid *Caladenia huegelii* H.G. Reichb. School of Earth and Geographical Sciences. University of Western Australia
- Syamsuni, H., A. (2006). Ilmu Resep. Penerbit Buku Kedokteran. Jakarta.
- Yuliani, N.N. dan Dienina, D.P. (2015). Uji Aktivitas Antioksidan Infusa Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lamk) Dengan Metode DPPH. Jurnal Info Kesehatan. 14(2): 1060-1082.