

AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK BIJI DAN HERBA (*Amomum compactum*) BESERTA KADAR FENOLIK DAN FLAVONOID TOTAL

Maria Ulfah^{1*}, Ririn Nur Arifah¹, Tahmiah Nunung Fadhila¹

¹Fakultas Farmasi, Universitas Wahid Hasyim, Semarang, Indonesia.

*Corresponding email: maria_ulfah@yahoo.com

Abstrak

Biji dan herba kapulaga jawa memiliki antioksidan di dalamnya yang dapat membantu mengurangi radikal bebas dalam tubuh. Penelitian ini melihat aktivitas antioksidan ekstrak biji kapulaga jawa dan herba serta mengukur kadar fenolik dan flavonoid total. Biji kapulaga dan herba diekstraksi menggunakan alat Soxhlet menggunakan etanol 96%. Ekstrak biji diuji aktivitas antioksidan dengan metode ABTS dengan baku Trolox dan ekstrak herba dengan metode DPPH dengan baku Vitamin C dan uji kadar flavonoid dan fenolik total dengan pereaksi $AlCl_3$ 10% dan Folin-Ciocalteu dengan baku Quercetin dan asam galat menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada λ 440 nm dan 740,5 nm. Hasil data dianalisis dengan menggunakan regresi linear. Aktivitas antioksidan ekstrak biji kapulaga jawa didapatkan nilai IC_{50} sebesar $144,339 \pm 0,398 \mu\text{g/mL}$ dan aktivitas antioksidan ekstrak herba kapulaga jawa didapatkan nilai IC_{50} sebesar $72,37 \pm 0,454 \mu\text{g/mL}$ serta biji kapulaga jawa memiliki kadar fenolik dan flavonoid total sebesar $54,978 \pm 0,369 \text{ mgEAG/gram}$ dan $1,068 \pm 0,021 \text{ mgEQ/gram}$ dan herba kapulaga jawa memiliki kadar fenolik dan flavonoid total kadar sebesar $117,675 \pm 0,292 \text{ mgEAG/gram}$ ekstrak dan $6,758 \pm 0,059 \text{ mgEQ/gram}$ ekstrak. Ekstrak biji dan herba kapulaga jawa memiliki aktivitas antioksidan yang sedang dan kuat.

Kata Kunci : Biji dan Herba Kapulaga Jawa, Fenolik, Flavonoid, IC_{50} .

PENDAHULUAN

Antioksidan penting bagi kesehatan tubuh manusia karena membantu mengurangi terjadinya reaksi oksidasi yang dapat menyebabkan kerusakan pada tubuh (Parwata, 2016). Salah satu antioksidan alami dalam tanaman yang berpotensi sebagai antioksidan adalah biji dan herba kapulaga jawa. Biji kapulaga jawa memiliki kandungan zat kimia di dalamnya yang berasal dari golongan flavonoid, alkaloid, fenol, terpenoid, dan tanin (Komala dkk., 2020 dan Sukandar dkk., 2015). Metabolit sekunder pada tumbuhan yang memiliki aktivitas antioksidan merupakan senyawa yang mengandung molekul fenolik dan flavonoid. (Redha, 2010). Penelitian ini melihat potensi antioksidan dari ekstrak biji kapulaga Jawa dengan metode ABTS dan Herba kapulaga Jawa dengan metode DPPH beserta penentuan kadar fenolik dan flavonoid total. Pengujian biji kapulaga jawa menggunakan metode ABTS karena menurut Widowati dkk. (2015) bahwa ekstrak etanol 70% biji kapulaga jawa dengan metode ekstraksi maserasi menggunakan metode DPPH terbukti memiliki antioksidan yang rendah dengan IC_{50} $177,90 \mu\text{g/mL}$. Menurut penelitian oleh Asra dkk. (2019), ekstrak etanol 70% daun kapulaga memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} lemah sebesar $4058,7 \mu\text{g/mL}$ dengan metode ekstraksi maserasi. Sehingga penelitian ini menggunakan metode sokletasi dengan pelarut etanol 96% dengan metode ABTS pada biji dan daun menggunakan metode DPPH. Menurut Bano *et al.* (2016) menyatakan bahwa ekstrak biji kapulaga hijau dengan metode sokletasi menggunakan pelarut metanol dengan metode DPPH diperoleh nilai persen inhibisi yang tinggi yaitu sebesar 82.50%. Berdasarkan penelitian Sahin (2013) menyatakan bahwa kandungan senyawa

flavonoid dan fenolik tahan terhadap pemanasan pada suhu 100°C. Sokletasi merupakan pilihan metode ekstraksi yang baik untuk senyawa yang tahan terhadap pemanasan (Saidi dkk., 2018). Penggunaan Herba kapulaga karena menurut Yashin *et al.* (2017) mengandung senyawa quersetin dan kaemferol. Quersetin dan kaemferol yang merupakan senyawa flavonoid jenis flavonol yang bersifat sebagai antioksidan (Banjarnahor and Artanti, 2014). Pelarut etanol dipertimbangkan daripada metanol karena lebih selektif, netral dan absorbsinya baik serta tidak beracun (Voight, 1994). Flavonoid jenis flavonol kurang polar, sehingga lebih mudah larut dalam etanol 96% dibandingkan 70% (Hanani, 2015). Semakin tinggi konsentrasi etanol, semakin kurang polar pelarutnya (Riwanti dkk., 2020). Antioksidan dapat diuji aktivitas antioksidannya dengan menggunakan metode DPPH dan ABTS. Menurut Prakas (2001), Metode DPPH mudah digunakan, cepat, menyeluruh, dan baik dalam pelarut organik, seperti alkohol. Selain itu metode DPPH mudah digunakan dan membutuhkan spektrofotometer (Karadag, dkk., 2009). Menurut Fitriana dkk. (2015) menyatakan metode ABTS lebih sensitive, Prosesnya cepat dan dapat digunakan dalam sistem larutan organik dan berbasis air (Prior *et al.*, 2005).

METODELOGI PENELITIAN

Bahan yang digunakan adalah biji dan herba kapulaga jawa dari Desa Ngesrepbalong, Limbangan, Kendal, Jawa Tengah. etanol 96% teknis (Merck), DPPH p.a (Merck), serbuk vitamin C (Merck), dan etanol p.a (Merck). HCl pekat, FeCl₃ 5%, asam galat, dan etanol p.a (Merck) kalium asetat, dan etanol p.a (Merck) aquadest, serbuk Mg, amil alkohol, kuersetin, pereaksi AlCl₃ 10%, pereaksi *Folin-Ciocalteu*, Na₂CO₃ 7%, CH₃COOK dan etanol p.a (Merck). ABTS, trolox, etanol p.a (Merck), dan kalium persulfat (K₂S₂O₈).

Instrumentasi yang digunakan seperangkat alat sokletasi, timbangan elektrik (Ohaus), *moisture balance* (Ohaus), oven (Memmert, *rotary evaporator* (Heidolph). Alat gelas (Iwaki Pyrex), Spektrofotometer UV-Vis 1800 (Shimadzu), kuvet, mikropipet (Socorex), *yellow tipe*, dan *blue tipe*. Pembuatan ekstrak biji dan herba kapulaga jawa dengan cara serbuk biji dan herba kapulaga masing-masing ditimbang sebanyak 50 gram, kemudian dibungkus dengan kertas saring dan diikat ujungnya dengan benang. Ini dimasukkan ke dalam labu alas bulat pada alat soket, dan sokletasi dilakukan pada suhu 70 derajat Celcius sampai tetesan siklus tidak lagi berwarna (larutan bening). Ekstrak cair kemudian dipekatkan menggunakan rotary evaporator pada suhu 40 derajat Celcius hingga diperoleh ekstrak etanol yang kental (Bano *et al.*, 2016).

Skринing fitokimia melibatkan pengujian keberadaan flavonoid dalam sampel. Ini dilakukan dengan menambahkan 100 mg ekstrak kental ke gelas kimia dan kemudian menambahkan 10 mL air suling. Larutan uji disaring untuk mendapatkan filtrat yang digunakan untuk pengujian. Hasil filtrat dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan serbuk magnesium, 1 mL asam klorida pekat dan 1 mL amil alkohol. Kemudian tabung dikocok hingga ekstrak homogen. Uji positif flavonoid ditunjukkan dengan perubahan warna merah, kuning, atau jingga pada lapisan amil alkohol. Serta menguji kandungan fenolik total dengan melarutkan 100 mg sampel dalam 20 mL etanol. Kemudian ditambahkan 2 tetes larutan FeCl₃ 5%. Hasil positif dari percobaan fenol dapat menghasilkan warna hijau atau biru-hijau. (Harborne, 1987).

Uji aktivitas antioksidan dengan ekstrak biji dan herba kapulaga jawa dilakukan dengan cara:

- a. Uji Herba Kapulaga jawa metode DPPH menggunakan baku Vitamin C dilakukan dengan cara baku vitamin C dengan konsentrasi 2,4,6,8,10, dan 12 ppm dan sampel ekstrak herba kapulaga jawa dengan konsentrasi 20, 40, 60, 80, 100, dan 120 ppm masing-masing sebanyak 1 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 4 mL DPPH kemudian diamkan selama 30 menit dan diukur pada λ 517,5 nm (Puspitasari dkk., 2019).

- b. Uji biji kapulaga jawa dengan metode ABTS dengan baku Trolox dilakukan dengan cara baku trolox dengan konsentrasi 5, 10, 15, 20, 25 ppm dan sampel ekstrak biji kapulaga jawa dengan konsentrasi 40, 80, 120, 160 dan 200 ppm, masing – masing diambil 1 mL kemudian dimasukkan dalam labu takar 5 mL dan ditambahkan 1 mL larutan stok ABTS dan tambahkan etanol p.a sampai tanda batas, kemudian diamkan selama 30 menit dan dibaca serapannya pada λ 730,5 nm (Setiawan, 2018).

Hasil data absorbansi yang diperoleh dianalisis dengan regresi linier dari masing-masing dihitung dengan rumus (Sami dan Rahimah, 2016) sebagai berikut:

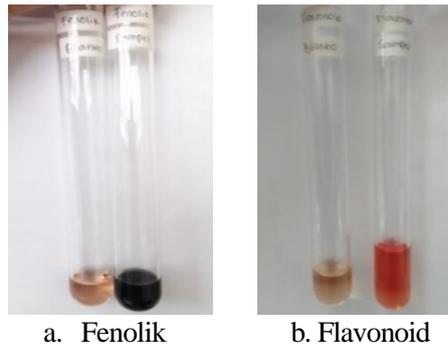
$$\% \text{ Daya antioksidan} = \left(\frac{\text{abs blanko} - \text{abs sampel}}{\text{abs blanko}} \right) \times 100 \% \quad \dots\dots\dots(1)$$

Ekstrak Biji dan Herba diuji kadar fenolik dan flavonoid total dengan cara:

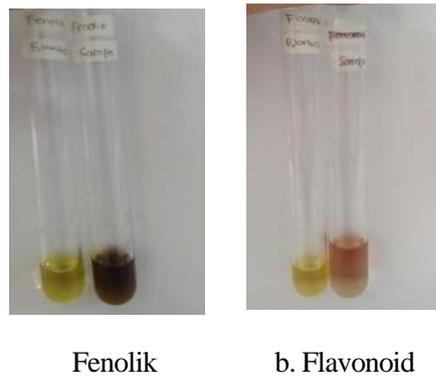
- a. Kadar Flavonoid Total
Baku kuersetin dengan konsentrasi 2, 4, 6, 8, 10, dan 12 ppm dan ekstrak biji dan herba kapulaga jawa, masing-masing diambil 1 ml dimasukkan dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan AlCl_3 10% sebanyak 200 μL dan CH_3COOK 1M sebanyak 200 μL dan diamkan selama 30 menit kemudian dibaca dengan spektrofotometer pada λ 440 nm (Puspitasari dkk., 2019).
- b. Penetapan kadar fenolik total
Baku asam galat dengan konsentrasi 50, 100, 150, 200, 250, dan 300 ppm dan ekstrak biji dan herba kapulaga jawa, masing-masing diambil 200 μL , dimasukkan dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 400 μL *Folin-ciocalteu*, 4 mL Na_2CO_3 7% kocok hingga homogen. Larutan diambil sebanyak 1 mL kemudian masukkan dalam labu takar 5 mL dan ditepatkan volumenya sampai tanda batas kemudian diamkan selama 120 menit baru dibaca serapannya pada λ maksimal 740,5 nm menggunakan spektrofotometer yang direplikasi 3 kali (Puspitasari dkk., 2019). Hasil kadar dinyatakan dalam mgEQ/gr ekstrak untuk flavonoid total dan mgEGA/gr ekstrak untuk fenolik total.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstrak etanol biji kapulaga jawa diperoleh sebesar 8,1 gram dengan rendemen ekstrak sebesar 8,1 % dengan kriteria warna coklat kemerahan dengan aroma khas biji kapulaga dan tekstur kental dan hasil ekstrak etanol 96% herba kapulaga jawa diperoleh sebanyak 8,3 gr. Rendemen ekstrak yang diperoleh sebanyak 16,6% dengan karakteristik berwarna coklat kehitaman dengan bau khas tanaman kapulaga dengan tekstur kental. Kemudian hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak etanol biji kapulaga jawa dan herba mengandung flavonoid dan senyawa fenolik. Uji positif senyawa flavonoid pada biji dan herba kapulaga jawa ditandai oleh terbentuknya warna merah pada lapisan amil alkohol sedangkan pada senyawa fenolik ditandai oleh terbentuknya warna hijau kebiruan (Harborne, 1987) yang terdapat pada gambar 1 dan 2.

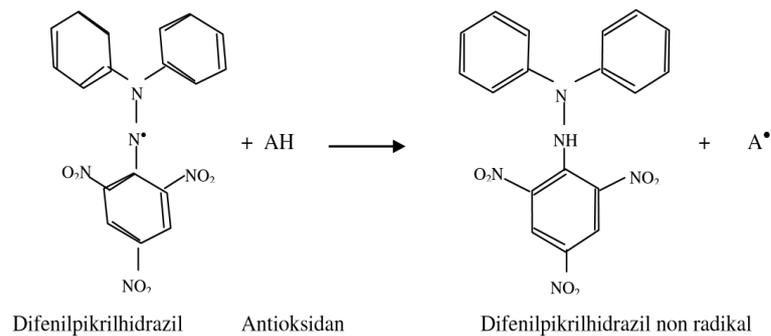


Gambar 1. Hasil skrining senyawa fenolik dan flavonoid pada ekstrak biji kapulaga jawa.

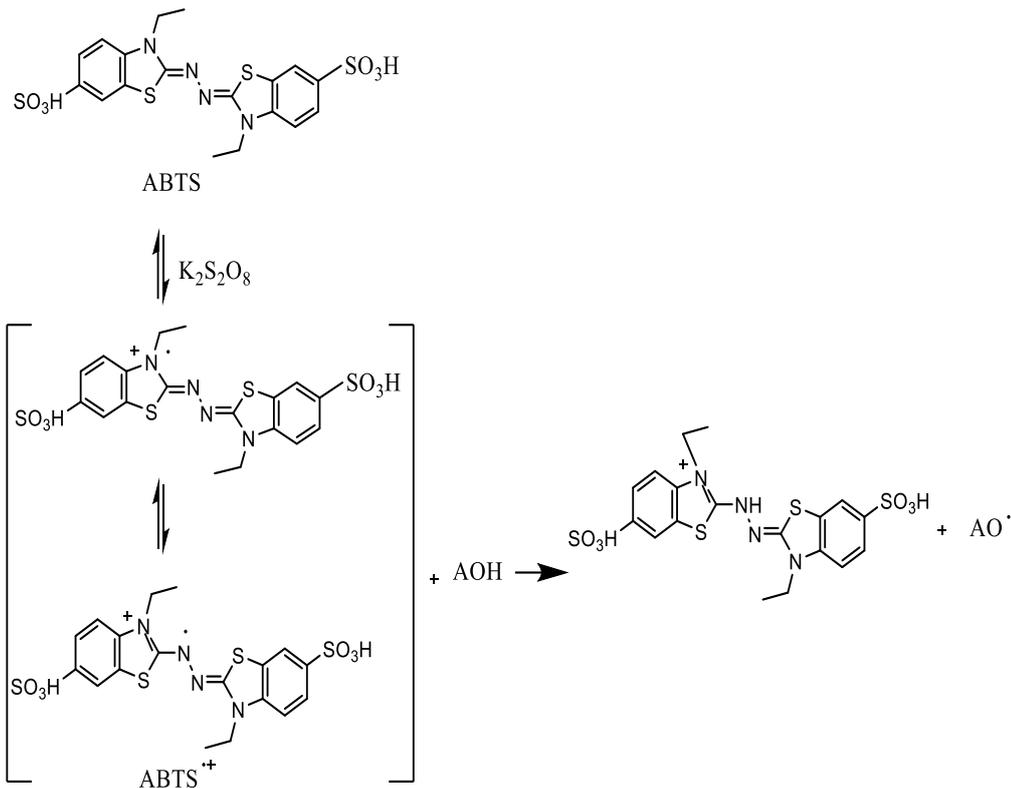


a. Fenolik b. Flavonoid
 Gambar 2. Hasil skrining senyawa fenolik dan flavonoid dalam ekstrak herba kapulaga jawa

Aktivitas antioksidan ekstrak etanol biji kapulaga jawa diketahui memiliki nilai IC_{50} sebesar $144,339 \pm 0,398 \mu\text{g/mL}$ yang dikategorikan sebagai antioksidan sedang. Sementara itu, aktivitas antioksidan ekstrak etanol biji kapulaga jawa juga ditemukan memiliki nilai standar Trolox IC_{50} sebesar $17,179 \pm 0,132 \mu\text{g/mL}$ yang dikategorikan sebagai antioksidan sangat kuat. Aktivitas antioksidan ekstrak etanol herba kapulaga jawa diukur dengan menggunakan metode DPPH. Nilai IC_{50} adalah $72,37 \pm 0,454 \mu\text{g/mL}$ yang merupakan antioksidan kuat. Nilai IC_{50} untuk perbandingan vitamin C adalah $8,664 \pm 0,156 \mu\text{g/mL}$ yang berarti ekstrak tersebut sangat kuat. Antioksidan memiliki aktivitas yang kuat melawan kerusakan akibat radikal bebas jika konsentrasi yang dibutuhkan untuk menghambat 50% aktivitas radikal bebas lebih rendah dari 50 ppm. (Molyneux, 2004; Yuslianti, 2018). Metode ABTS memiliki ciri warna biru kehijauan. Ketika direduksi oleh antioksidan, ia berubah menjadi bentuk non-radikal yang tidak berwarna (Setiawan dkk., 2018). Sedangkan Metode DPPH bekerja dengan memecah warna ungu menjadi warna kuning pucat karena elektron bebas berpasangan dengan hidrogen dari antioksidan (Prakash *et al.*, 2001). Mekanisme reaksi Peredaman DPPH dan ABTS terdapat pada gambar 3 dan 4.



Gambar 3. Mekanisme Reaksi DPPH dengan antioksidan (Molyneux, 2004)



Gambar 4. Reaksi ABTS oleh kalium persulfat dengan senyawa antioksidan (Oliveira, 2014)

Berdasarkan hasil penetapan kadar Kadar fenolik dan flavonoid ekstrak biji kapulaga jawa diperoleh kadar sebesar $54,978 \pm 0,369$ mgEAG/gram dan $1,068 \pm 0,021$ mgEQ/gram. Kadar flavonoid serta fenolik ekstrak herba kapulaga jawa diperoleh kadar sebesar $6,758 \pm 0,059$ mgEQ/gram ekstrak dan $117,675 \pm 0,292$ mgEAG/gram ekstrak.

KESIMPULAN

Ekstrak biji dan ramuan kapulaga Jawa memiliki aktivitas antioksidan dengan kategori sedang dan kuat serta memiliki kadar fenolik dan total flavonoid yang tinggi pada herbal daripada biji.

DAFTAR PUSTAKA

- Asra, R., Nize, R. A., Rusdi, & Nessa. (2019). Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Fraksi Heksan, Fraksi Etil Asetat dan Fraksi Air Daun Kapulaga (*Elletaria cardamomum* (L.) Maton). *Journal Of Pharmaceutical and Sciences*. 2(1). 30-37.
- Bano, S., Nashrah, A., & Sharma, A.K. (2016). Phytochemical screening and evaluation of antimicrobial and anti-oxidant activity of *Elettaria cardamom* (Cardamom). *Journal of Applied and Natural Science*. 8(4).
- Banjarnahor, S.D.S., & Artanti, N. (2014). Antioxidant properties of flavonoids, *Med J Indones*. (23). 239-244.
- Ronal, L.P., Xianli, W., & Karen, S. (2005). Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53(10). 4290–4302.

- Fitriana, W. D., Sri F., & Taslim E. (2015). Uji Aktivitas Antioksidan terhadap DPPH dan ABTS dari Fraksi-fraksi Daun Kelor (*Moringa oleifera*). *Prosiding Simposium Nasional Inovasi dan Pembelajaran Sains* (657).
- Hanani, E. (2015). *Analisis Fitokimia*. Jakarta: Buku Kedokteran EGC.
- Harborne. (1987). *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. (K. Padmawinata, I. Soediro. Penerjemah). Bandung: ITB.
- Komala, O., Ismanto., & Maulana, M.A. (2020). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Biji Kapulaga Jawa (*Amomum compactum* Soland. Ex Maton) terhadap *Streptococcus pyogenes*. *Jurnal Ilmiah Ilmu Dasar dan Lingkungan Hidup*. 20(1).
- Molyneux, P. (2004). The Use of The Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. *Songklanakar J. Sci. Technol*, 26 (2), 211 – 219.
- Oliveira, S., Glalci, A.S., Camila, R.E., Thuany, A.S., Edmar, S, Oriana, A. F., Marcelo, J., Pena, F., & Paulete, R. (2014). Evaluation of Antiradical Assays Used in Determining The Antioxidant Capacity of Pure Compounds and Plant Extracts, *Quim.Nova*. 37(3). 497 – 503.
- Parwata, I.M.O.A. (2016). *Antioksidan*, Denpasar: Universitas Adayana Press.
- Prakash, A., Rigelhof, F., & Miller, E. (2001). Antioxidant Activity. *Medallion Laboratories: Analytical Progress*, 19(2). 1-4.
- Prior, R.L., Xianli, W., & Karen, S. (2005). Standardized Methods for the Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53(10).4290-302.
- Puspitasari, A.D., Feristasari, F.A., & Nouvia, G.A.F. (2019). Aktivitas Antioksidan, Penetapan Kadar Fenolik Total dan Flavonoid Total Ekstrak Etanol, Etil Asetat, Dan N-Heksan Daun Petai (*Parkia speciosa* Hassk.). *Jurnal Ilmiah Teknosains*. 5(1).
- Voigt, R. (1994). *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*, Yogyakarta: Gajah Mada University Press.
- Redha, A. (2010). Flavonoid: struktur, sifat antioksidatif dan peranannya dalam sistem biologis, *Jurnal Belian*. 9(2). 296-202.
- Sahin, S. (2013). Evaluation of Antioxidant Properties and Composition of Fruit Tea Infusion, *Antioxidant*. 2. 206-215.
- Saidi, Ginting, B., Murniana, & Mustanir. (2018). *Analisis Metabolit Sekunder*. Aceh: Syiah Kuala University Press.
- Sami, F.J., & Rahimah, S. (2016). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Bunga Brokoli (*Brassica oleracea* L. var. *Italica*) Dengan Metode DPPH (2,2 diphenyl-1-picrylhydrazyl) dan Metode ABTS (2,2 azinobis (3-etilbenzotiazolin)-6-asam sulfonat). *J. Fitofarmaka Indonesia*. 2(2). 107-110.
- Setiawan, F., Yunita, O., & Kurniawan, A. (2018) Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Kayu Secang (*Caesalpinia Sappan*) Menggunakan Metode DPPH, ABTS, dan FRAP. *Media Pharmaceutica Indonesia*. 2(2). 85 – 88.
- Sukandar, D., Sandra, H., Eka, R.A., & Muhammad, Z. (2015). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Biji Kapulaga (*Amomum compactum* Sol. Ex Maton). *JKTI*. 17(2). ISSN 0853 – 2788.
- Yashin, A., Yakov, Y., Xiaoyan, X., & Boris, N. (2017). Antioxidant Activity of Spices and Their Impact on Human Health: A Review, *Antioxidants*. 6(3). 70.
- Yuslianti, E. R. (2018). *Pengantar Radikal Bebas dan Antioksidan*. Yogyakarta: Penerbit Deepublish.
- Widowati, W., Ratnawati, H., Husin, W., & Maesaroh, M. (2015). Antioxidant Properties of Spice Extracts. *Biomedical Engineering*. 1(1). 24-29.