

**TOTAL FENOLIK, FLAVONOID SERTA AKTIVITAS ANTIOKSIDAN
EKSTRAK *n*-HEKSANA, DIKLOROMETAN DAN METANOL
Amaranthus spinosus L EM5-BAWANG PUTIH**

Yondra Arif D, Christine Jose, Hilwan Yuda Teruna

**Mahasiswa Program Studi S1 Kimia
Bidang Biokimia Jurusan Kimia
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Riau
Kampus Binawidya Pekanbaru, 28293, Indonesia
yondera.arifude@gmail.com**

ABSTRACT

The objective of this study was to analyze the total phenolics, total flavonoids, and antioxidant activities of *Amaranthus spinosus* L leaves. During cultivation, these plants were treated with 2 treatments, biocontrol Effective Microorganism 5 (EM5) garlic and control (water). The *A. spinosus* L leaves were dried using freeze dryer and extracted by dissolving *n*-hexane, dicloromethane (DCM) and methanol. The results showed that *A. spinosus* L leaves treated with biocontrol had the highest total phenolic, total flavonoid and antioxidant activity content compare to the control. The total phenolic, total flavonoid, 2,2 diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) and Nitric Oxide (NO) radical scavenging were the highest on DCM extract with each value of 74,656 mg Gallic Acid Equivalent (GAE)/g of dry weight (DW), 22,337 mg Catechin Equivalent (CE)/g DW, 0,373 mg/mL and 0,025 mg/mL. *n*-Hexane extract had the highest antioxidant activity on Ferric Thiocyanate (FTC) test (27,615 %), meanwhile methanol extract indicated the highest antioxidant activity on FRAP test (1,022 mmol Fe⁺²/g DW). From this study, it can be concluded that *A. spinosus* L leaves with biocontrol Effective Microorganism 5 (EM5) garlic can increase the phenolic, flavonoids and antioxidant activitiy contents of *A. spinosus* L plant.

Keywords: Antioxidant activity, *A. spinosus* L, EM5, phenolic, flavonoid

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis kandungan total fenolik, total flavonoid dan aktivitas antioksidan pada daun tanaman *Amaranthus spinosus* L. Selama masa penanaman, tanaman ini disiram dengan 2 perlakuan yaitu biokontrol *Effective*

Microorganism 5 (EM5) bawang putih dan kontrol (air). Daun tanaman *A. spinosus* L dikeringkan menggunakan *freeze dryer* dan diekstraksi secara bertingkat menggunakan pelarut *n*-heksana, diklorometana (DCM) dan metanol. Hasil penelitian menunjukkan daun tanaman *A. spinosus* L dengan penyiraman menggunakan biokontrol memiliki kandungan total fenolik, total flavonoid dan aktivitas antioksidan lebih tinggi dibandingkan kontrol. Kandungan total fenolik, total flavonoid, aktivitas antioksidan uji 2,2 *diphenyl-1-picrylhydrazyl* (DPPH) dan penangkapan radikal *Nitric Oxide* (NO) tertinggi terdapat pada ekstrak DCM dengan nilai masing-masing sebesar 74,656 mg Asam Galat Ekuivalen (AGE)/g berat kering (BK), 22,337 mg Katekin Ekuivalen (KE)/g BK, 0,373 mg/mL dan 0,025 mg/mL. Ekstrak *n*-heksana memiliki aktivitas antioksidan tertinggi untuk uji *Ferric Thiocyanate* (FTC) (27,615 %), sedangkan ekstrak metanol menunjukkan aktivitas antioksidan tertinggi dengan uji FRAP (1,022 mmol Fe⁺²/g BK). Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa daun *A. spinosus* L dengan biokontrol EM5 bawang putih dapat meningkatkan kandungan fenolik, flavonoid dan aktivitas antioksidan tanaman *A. spinosus* L.

Kata kunci: Aktivitas antioksidan, *A. spinosus* L, EM5, fenolik, flavonoid.

PENDAHULUAN

Bayam berduri merupakan spesies dari *Amaranthaceae* dengan nama latin *Amaranthus spinosus* L. Tanaman ini dapat digunakan sebagai antioksidan dan analgesik untuk mengobati beberapa penyakit seperti: diuretik, antidiabetik, antipiretik, anti-snake venom (Kumar, dkk. 2010). Hal ini menunjukkan bahwa tanaman ini mempunyai senyawa aktif seperti senyawa fenolik dan senyawa turunannya yaitu flavonoid (Chang, dkk. 2007). Golongan fenolik, flavonoid, beta-karoten, katekin, vitamin C dan E merupakan senyawa kimia yang tergolong dalam kelompok antioksidan (Hernani dan Rahardjo., 2005)

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat spesies oksigen reaktif, spesies nitrogen reaktif dan radikal bebas lainnya sehingga mampu mencegah kerusakan pada sel normal, protein, dan lemak yang akhirnya mencegah penyakit-penyakit degeneratif.

Radikal bebas adalah molekul yang kehilangan satu elektron sehingga molekul tersebut menjadi tidak stabil. Antioksidan memiliki struktur molekul yang dapat memberikan elektronnya kepada molekul radikal bebas tanpa terganggu sama sekali fungsinya (Halliwell and Gutteridge, 2000).

Pada umumnya senyawa antioksidan alami dapat diperoleh dengan cara ekstraksi menggunakan pelarut. Perbedaan posisi gugus fungsi suatu senyawa dapat mempengaruhi kepolaran suatu senyawa, sehingga ekstraksi menggunakan pelarut dengan kepolaran yang berbeda lebih efektif untuk mendapatkan senyawa metabolit sekunder dengan kepolaran yang berbeda (Pambayun dkk., 2007). Bulbul (2011), melaporkan bahwa ekstraksi dengan menggunakan pelarut kloroform, *n*-heksana dan etil asetat pada tanaman *A. spinosus* memberikan hasil yang berbeda terhadap aktivitas antioksidan. Pengukuran antioksidan dilakukan dengan metoda 2,2-Diphenyl-1-

picrylhydrazyl (DPPH) dengan nilai IC₅₀ (66,88; 67,14; dan 53,68 µg/mL)

Pembentukan dan peningkatan kandungan senyawa metabolit sekunder pada tanaman seperti polifenol dan flavonoid dipengaruhi oleh perlakuan terhadap tanaman. Penanaman secara organik dengan pemberian biokontrol dapat meningkatkan kandungan senyawa antioksidan pada tanaman, berdasarkan penelitian Nurkholidah (2005) yang melaporkan bahwa selada organik dengan perlakuan biokontrol EM5-bawang putih memiliki kandungan vitamin C tertinggi (68,836 mg/100 g) dibandingkan perlakuan EM5. Alfianti (2012) melaporkan bahwa kangkung organik dengan perlakuan menggunakan biokontrol EM5 dengan bawang putih memiliki IC₅₀ terbaik (2,33 mg/mL) untuk uji penangkapan radikal NO dibandingkan dengan perlakuan lainnya menggunakan ETT pahitan, babadotan, rempah-rempah, dan EM5.

Aplikasi biokontrol EM5-bawang putih pada tanaman *A. spinosus* L belum pernah diteliti. Berdasarkan uraian diatas perlu diteliti pengaruh biokontrol EM5-bawang putih terhadap kandungan fenolik, flavonoid dan aktivitas antioksidan yang diekstrak dengan pelarut *n*-heksana, diklorometana (DCM), dan metanol. Aktivitas antioksidan diukur menggunakan metode *Ferric Reducing Antioxidant Power* (FRAP), *Ferric Thiocyanate* (FTC), 2,2-*Diphenyl-1-picrylhydrazyl* (DPPH), dan aktivitas penangkapan radikal NO.

METODE PENELITIAN

a. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah peralatan gelas yang biasa digunakan dalam penelitian, spektrofotometer UV-Vis genesis 10S, *freeze dryer*, *microplate reader 96 well*, peralatan destilasi, neraca analitik, *rotary evaporator*, ultrasonikator Kerry Pulsatron, pH meter, pipet mikro.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah bibit *A. spinosus*, EM4 Dorman, larutan gula merah, asam cuka 5%, alkohol 35%, dan bawang putih, *n*-heksana, diklorometana (DCM), metanol, reagen Folin-Ciocalteu, Na₂CO₃, asam galat, NaNO₂, AlCl₃, asam linoleat, etanol absolut, FeCl₂.4H₂O, FeSO₄.7H₂O, KSCN, 2,2-*diphenyl-1-picrylhydrazyl* (DPPH), NaH₂PO₄, Na₂HPO₄, asam askorbat, sodium nitroprusida, sulfanilamide, N-1 naftil etilen diamin, asam metafosforat, HCL, NaOH, 2,4,6-tripirydil-1-S-triazin (TPTZ)

b. Persiapan Biokontrol

Biokontrol berupa EM5-bawang putih dibuat dengan mencampurkan 250 g bawang putih yang telah dihaluskan, 600 mL air, 100 mL asam cuka 5%, 100 mL alkohol 35%, 100 mL larutan gula merah dan 100 mL EM4 dalam wadah ukuran 1500 mL. Campuran tersebut dihomogenkan dan disimpan di tempat yang tidak terkena cahaya matahari. Fermentasi campuran dilakukan selama 2 minggu dan gas yang terbentuk dikeluarkan secara berkala.

c. Persiapan Sampel

Tanaman *A. spinosus* ditanam di Kebun Bokashi UR terdiri dari 3 kelompok dan setiap kelompok terdiri dari 2 perlakuan. Sehingga total plot adalah 6 plot dengan ukuran 1x3 m. Dalam masing-masing plot terdapat 30 batang tanaman dengan jarak tanam 25x25 cm. Masing-masing plot diberikan perlakuan yang berbeda tiap 2 hari sekali. Perlakuan meliputi Biokontrol (B) dan Kontrol (K).

Setelah 40 hari, daun tanaman dipanen dan dibersihkan. Daun dikeringkan menggunakan *freeze dryer*. Sebelum dikeringkan daun tanaman disimpan dalam *freezer* selama satu malam, kemudian dikeringkan pada suhu -40°C . Sampel yang telah kering selanjutnya dihaluskan menggunakan lumpang.

Serbuk daun tanaman diekstrak dengan metoda maserasi. Serbuk dimasukkan dalam bejana ekstraksi dengan pelarut *n*-heksana selama 1x24 jam dan dilakukan sebanyak 3 kali. Ekstrak yang didapat diuapkan pelarutnya menggunakan *rotary evaporator*, sehingga didapat ekstrak total *n*-heksana. Residu yang telah kering diekstrak kembali dengan pelarut DCM, dengan perlakuan yang sama hingga didapat ekstrak total DCM begitu juga untuk ekstrak total metanol.

d. Analisis Total Fenolik

Total fenol diukur dengan metode Folin-Ciocalteu dari Mustafa dkk. (2010) yang dimodifikasi. Sebanyak 0,9 ml aquades dan 0,5 ml reagen Folin-Ciocalteu 0,25 N ditambahkan ke dalam tabung reaksi yang telah berisi masing-

masing 0,1 ml ekstrak. Semua ekstrak dilarutkan dengan metanol. Campuran divortex dan ditempatkan di tempat gelap pada suhu ruang selama 5 menit. Setelah itu, sebanyak 2,5 ml Na_2CO_3 7% ditambahkan ke dalam campuran dan divortex. Campuran diinkubasi terlebih dahulu selama 20 menit di tempat gelap pada suhu ruang sebelum absorbansi diukur pada panjang gelombang 755 nm. Standar yang digunakan adalah asam galat (50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, dan 400 ppm).

e. Analisis Total Flavonoid

Analisis kadar total flavonoid menggunakan metode dari Taie dkk (2008) yang dimodifikasi. Sebanyak 0,25 ml ekstrak yang dilarutkan dengan metanol dicampurkan dengan 1,25 ml aquades dan 0,075 ml reagen NaNO_2 5%. Campuran divortex dan diinkubasi di tempat gelap pada suhu ruang selama 6 menit. Setelah itu, sebanyak 0,15 ml $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 10% ditambahkan ke dalam campuran dan divortex. Campuran diinkubasi kembali di tempat gelap pada suhu ruang selama 5 menit. Kemudian tambahkan 0,5 mL NaOH 1M dan aquades hingga volume total 2,5 mL. Absorbansi campuran diukur pada panjang gelombang 507 nm. Standar yang digunakan adalah katekin (40, 80, 120, 160, 200, 240, dan 280 ppm).

f. Aktivitas Antioksidan DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)

Metode DPPH yang digunakan untuk pengukuran total aktivitas antioksidan ini berdasarkan metode dari Taie dkk. (2008). Sebanyak 150 μL larutan DPPH 30 $\mu\text{g/mL}$ dimasukkan ke

dalam 96 well clear polystyrene microplate yang didalamnya telah terdapat 50 µL ekstrak yang dilarutkan dengan metanol (1000; 500; 250; 125; 62,5; 31,25 dan 15,625 µg/mL). Untuk kontrol, campuran berisi 150 µL larutan DPPH 30 µg/mL dan 50 µL metanol. Campuran diinkubasi selama 30 menit pada temperatur ruang. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 520 nm. Untuk *inhibition concentration 50* (IC₅₀) ditentukan dengan memvariasikan konsentrasi sampel. Larutan asam askorbat digunakan sebagai kontrol (+).

g. Aktivitas Antioksidan FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power)

Penentuan aktivitas antioksidan menggunakan uji FRAP mengacu kepada metode Vichitphan dkk. (2007) dengan FeSO₄.7H₂O sebagai standar. Reagen FRAP dibuat dengan mencampur larutan buffer asetat 0,2 M (pH 3,6), larutan TPTZ (2,4,6-tripyridyl-s-triazine) 10 mM dalam HCl 40 mM, dan larutan FeCl₃.6H₂O 20 mM dengan perbandingan volume 10:1:1. Sebanyak 100 µl ekstrak yang dilarutkan dengan metanol dan 300 µl aquades ditambahkan ke dalam tabung yang telah berisi 3 ml reagen FRAP. Campuran divortex dan diinkubasi selama 8 menit didalam gelap pada suhu ruang. Absorbansi sampel diukur pada panjang gelombang 594 nm dan hasilnya dihitung dalam Fe⁺² ekuivalen (mM Fe⁺²) menggunakan kurva standar FeSO₄.7H₂O (0,4; 0,8; 1,2; 1,6; dan 2mM).

h. Aktivitas Antioksidan FTC (Ferric Thiocyanate)

Pengukuran aktivitas antioksidan pada ekstrak *A. spinosus* menggunakan metode *Ferric Thiocyanate* dari Lindsey (2002) yang dimodifikasi. Sebanyak 30 µl asam linoleat ditambahkan ke dalam tabung reaksi yang telah berisi 3 ml etanol. Sebanyak 30 µl ekstrak yang telah dilarutkan dengan metanol ditambahkan ke dalam campuran kemudian divortex. Campuran diinkubasi selama 24 jam di tempat gelap pada suhu ruang. Sebanyak 30 µl FeCl₂ 0,014 M dan 30 µl KSCN 30% ditambahkan pada campuran. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 500 nm. Untuk tabung kontrol, dilakukan pengujian yang sama tanpa ekstrak sedangkan untuk tabung blanko ekstrak, ekstrak diganti dengan pelarut.

$$\% I = \left[\frac{A_k - A_s}{A_k} \right] \times 100\%$$

Keterangan:

% I = Persen Inhibisi (Hambatan)

A_k = Absorbansi Kontrol

A_s = Absorbansi Sampel

i. Aktivitas Antioksidan NO (Nitric Oxide)

Pengukuran aktivitas penangkapan radikal NO menggunakan metode yang dilakukan oleh Sonawane dkk. (2010). Reagen Gries disiapkan terlebih dahulu dengan mencampurkan larutan sulfanilamida 1% dan larutan N-1-naftil etilendiamin dihidroklorida 0,1% dengan perbandingan 1:1. Kemudian sebanyak 0,75 mL ekstrak yang dilarutkan dengan metanol ditambahkan dengan 0,25 mL

Na-nitroprusida 50 mM dalam buffer fosfat 0,5 M pH 7,4. Campuran didiamkan pada ruang terbuka selama 15 menit. Sebanyak 1 mL campuran dan 1 mL reagen Gries dicampur dan didiamkan pada ruang terbuka selama 5 menit. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 545 nm. Untuk *inhibition concentration* 50 (IC₅₀) ditentukan dengan memvariasikan konsentrasi sampel. Larutan asam askorbat digunakan sebagai kontrol positif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini tanaman *A. spinosus* yang diberi perlakuan biokontrol (EM5-bawang putih) memiliki kandungan total fenolik, total flavonoid dan aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan perlakuan kontrol (air).

EM5-bawang putih merupakan hasil fermentasi asam asetat, alkohol, larutan gula dan bawang putih dengan inokulum EM4. EM5-bawang putih mengandung senyawa bioaktif seperti asam-asam organik, hormon, metabolit sekunder, dan mineral. Senyawa-senyawa tersebut dapat diserap langsung oleh tanaman melalui akar maupun stomata tanaman, serta dapat berfungsi sebagai pelindung tanaman dari serangan hama. Penyerapan senyawa tersebut juga dapat menginduksi gen pada tanaman untuk mensintesis senyawa metabolit sekunder, seperti senyawa fenolik dan flavonoid, dengan respon yang berbeda-beda pada tanaman (Kyan dkk., 1999).

Pengaruh penggunaan pelarut dalam proses ekstraksi juga mempengaruhi besarnya senyawa fenolik dan flavonoid yang terekstrak. Pada Tabel 1 terlihat, kandungan total

fenolik dan flavonoid tertinggi pada ekstrak DCM (74,656 mg AGE/g BK dan 22,337 mg KE/g BK) dengan biokontrol. Kandungan fenolik dan flavonoid pada penelitian ini menunjukkan senyawa fenolik pada tanaman ini lebih banyak bersifat semipolar.

Kandungan senyawa fenolik pada tanaman *A. spinosus* disebabkan karena adanya perbedaan kandungan senyawa aktif dalam campuran EM5-bawang putih yang dapat menghasilkan prekursor dalam sintesis senyawa fenolik dan flavonoid pada suatu tanaman (Higa dan Parr., 1994). Kandungan fenolik pada penelitian ini didukung oleh penelitian Ibrahim (2011), bahwa penggunaan campuran EM5-bawang putih dapat meningkatkan kandungan total fenolik sebesar 36% hingga 65% pada sayuran pakcoy. Hal serupa juga pernah dilaporkan oleh Raisandi (2012) yang mendapati bahwa sayuran selada dengan kandungan total fenolik tinggi juga memiliki kandungan total flavonoid yang tinggi pula.

Antioksidan sangat penting peranannya bagi tubuh manusia untuk mempertahankan diri dari radikal bebas maupun prooksidan lainnya. Senyawa antioksidan berperan penting dalam mencegah berbagai penyakit kronis seperti penyakit jantung, kanker, stroke, dan penyakit degeneratif lainnya. Senyawa yang berperan sebagai antioksidan adalah seperti senyawa fenolik, flavonoid, vitamin C, vitamin E, dan karotenoid, serta kurkumin. Setiap senyawa antioksidan memiliki keunggulannya masing-masing dalam bekerja sebagai antioksidan.

Aktivitas antioksidan merupakan ukuran kemampuan suatu zat dalam

mencegah, menghambat, atau memutuskan rantai reaksi oksidasi yang diakibatkan oleh radikal bebas atau prooksidan lainnya. Beragamnya jenis oksidan dan mekanisme antioksidan dalam menangkap oksidan tersebut menyebabkan diperlukannya lebih dari satu metode untuk mengidentifikasi aktivitas antioksidan suatu sampel. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah DPPH, FRAP, FTC, dan penangkapan radikal NO. Metode DPPH merupakan metode awal yang dapat menunjukkan adanya aktivitas antioksidan suatu sampel. Namun diperlukan metode lain untuk menentukan aktivitas antioksidan suatu

sampel terhadap oksidan yang lebih spesifik seperti metode FRAP, FTC, dan penangkapan radikal NO.

Pada Tabel 2 terlihat aktivitas antioksidan metoda DPPH dan penangkapan radikal NO, nilai IC₅₀ tertinggi terdapat pada ekstrak DCM (0,374 dan 0,025 mg/mL).

Radikal DPPH merupakan senyawa radikal berwarna ungu dengan satu atom yang tidak berpasangan. Senyawa ini memiliki serapan pada panjang gelombang 515-517 nm. Radikal DPPH distabilkan dengan adanya donor satu atom H dari antioksidan atau donor elektron

Tabel 1. Kandungan total fenolik dan total flavonoid ekstrak tanaman *A. spinosus*

Perlakuan	Ekstrak	Kandungan fenolik (mg AGE/g BK)		Kandungan flavonoid (mg KE/g BK)	
Kontrol	<i>n</i> -heksana	15,249	± 1,158 ^e	4,244	± 0,342 ^e
	DCM	43,067	± 3,852 ^c	17,720	± 0,181 ^b
	Metanol	35,928	± 4,938 ^d	9,355	± 0,364 ^d
Biokontrol	<i>n</i> -heksana	30,822	± 2,878 ^d	13,109	± 0,216 ^c
	DCM	74,656	± 1,247 ^a	22,337	± 0,692 ^a
	Metanol	52,375	± 2,359 ^b	12,351	± 0,844 ^c

Ket: Notasi huruf yang berbeda (a,b,c,d, dan e) menunjukkan perbedaan signifikan (P<0,05) berdasarkan uji DNMRT

Kontrol = Tanpa biokontrol (air)

Biokontrol = EM5-bawang putih

AGE = Asam galat ekuivalen

KE = Katekin ekuivalen

BK = Berat kering

Tabel 2. Nilai IC₅₀ uji antioksidan DPPH dan radikal NO tanaman *A. spinosus*.

Perlakuan	Ekstrak	IC ₅₀ DPPH (mg /mL)		IC ₅₀ NO (mg /mL)	
Kontrol	<i>n</i> -heksana	1,614	± 0,104 ^b	0,126	± 0,005 ^a
	DCM	0,539	± 0,026 ^a	0,037	± 0,009 ^a
	Metanol	1,632	± 0,433 ^b	1,610	± 0,123 ^c
Biokontrol	<i>n</i> -heksana	1,338	± 0,040 ^b	0,089	± 0,001 ^a
	DCM	0,374	± 0,019 ^a	0,025	± 0,002 ^a
	Metanol	0,643	± 0,060 ^a	0,972	± 0,127 ^b

Ket: Notasi huruf yang berbeda (a,b dan c) menunjukkan perbedaan signifikan (P<0,05) berdasarkan uji DNMRT

Kontrol = Tanpa biokontrol (air)

Biokontrol = EM5-bawang putih

IC₅₀ = Inhibition concentration 50

Tabel 3. Nilai aktivitas antioksidan FRAP dan FTC tanaman *A. spinosus*

Perlakuan	Ekstrak	Kandungan FRAP (mmol Fe ⁺² /g BK)	Persen inhibisi (%)
Kontrol	<i>n</i> -heksana	0,129 ± 0,007 ^f	24,448 ± 2,239 ^{bc}
	DCM	0,344 ± 0,022 ^d	21,756 ± 0,839 ^c
	Metanol	0,936 ± 0,034 ^b	25,097 ± 2,303 ^{ab}
Biokontrol	<i>n</i> -heksana	0,228 ± 0,011 ^e	27,615 ± 0,666 ^a
	DCM	0,456 ± 0,019 ^c	25,399 ± 1,577 ^{ab}
	Metanol	1,022 ± 0,011 ^a	27,576 ± 0,524 ^a

Ket: Notasi huruf yang berbeda (a,b,c,d,e dan f) menunjukkan perbedaan signifikan ($P < 0,05$) berdasarkan uji DNMRT

Kontrol = Tanpa biokontrol (air)

Biokontrol = EM5-bawang putih

BK = Berat kering

Ketika radikal DPPH direduksi oleh antioksidan maka warna DPPHH yang telah stabil akan berubah menjadi kuning dan menurunkan absorbansi larutan uji. Pada penelitian ini, aktivitas antioksidan penangkapan radikal DPPH memiliki hubungan dengan kandungan fenolik dan flavonoid tanaman. Alfianti (2012) melaporkan bahwa kandungan fenolik dan flavonoid yang tinggi memiliki aktivitas antioksidan penangkapan radikal DPPH yang tinggi pula pada tanaman kangkung.

Aktivitas antioksidan metode penangkapan radikal NO menunjukkan kemampuan ekstrak daun *A. spinosus* dalam menangkap radikal NO yang dihasilkan oleh larutan sodium nitroprussida. Antioksidan akan berkompetisi dengan oksigen yang jika bereaksi dengan radikal NO akan membentuk ion nitrit. Ion nitrit yang terbentuk dapat membentuk kromofor dengan reagen Griess yang dapat diukur absorbansinya pada panjang gelombang 550nm. Aktivitas penangkapan radikal NO tergantung pada jenis struktur flavonoid yang ada pada suatu tanaman. Flavonoid jenis flavon dapat menghambat radikal NO lebih tinggi dibandingkan flavonol, flavonon dan

isoflavon. Selain itu, kandungan fenolik pada suatu tanaman seperti katekin pada teh dan tanin pada tanaman herbal juga mempengaruhi aktivitas penangkapan radikal NO (Tsai dkk., 2007).

Pada Tabel 3 menunjukkan aktivitas antioksidan metoda FRAP dan FTC. Pada metoda FRAP aktivitas terbesar terdapat pada ekstrak metanol (1,022 mmol Fe⁺²/g BK). Uji aktivitas antioksidan pada metoda FRAP menunjukkan bahwa senyawa kimia yang bersifat polar lebih memiliki aktivitas yang lebih besar pada metoda ini. FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) merupakan metode penentuan aktivitas antioksidan yang mengukur kemampuan antioksidan untuk mereduksi Fe⁺³ dalam kompleks Fe³⁺-TPTZ menjadi Fe⁺²-TPTZ dengan cara mendonorkan elektronnya.

Pada FTC, persen inhibisi terbesar terdapat pada ekstrak *n*-heksana (27,615%). Pengukuran aktivitas antioksidan dengan metode FTC menunjukkan kemampuan sampel daun tanaman *A. spinosus* L dalam menghambat peroksidasi asam linoleat. Oksidasi asam linoleat akan menghasilkan hidroperoksida. Hidroperoksida yang tersebut dapat

mengoksidasi Fe^{+2} dari FeCl_2 menjadi Fe^{+3} . Fe^{+3} yang terbentuk selanjutnya akan bereaksi dengan SCN^- membentuk senyawa kompleks berwarna merah $\text{Fe}(\text{SCN})_3$ yang dapat diukur absorbansinya pada panjang gelombang 500 nm. Antioksidan dapat menghambat oksidasi asam linoleat yang ditandai dengan penurunan kadar oksidan hidroperoksida yang terbentuk dibandingkan kontrol. Penurunan kadar hidroperoksida akan berbanding lurus terhadap absorbansi dari senyawa $\text{Fe}(\text{SCN})_3$ dalam larutan uji. Tingginya aktivitas antioksidan dapat disebabkan oleh adanya senyawa antioksidan yang bersifat semipolar atau non polar seperti flavonoid aglikon dan tokoferol. Flavonoid dan tokoferol memiliki kemampuan untuk menghambat peroksidasi asam linoleat. Tokoferol merupakan senyawa antioksidan yang larut dalam lemak dan merupakan penghambat peroksidasi lemak yang paling baik (Yoshihara., 2010).

KESIMPULAN

Pada penelitian ini dapat disimpulkan bahwa, penggunaan biokontrol EM5-bawang putih dapat meningkatkan kandungan total fenolik, total flavonoid dan aktivitas antioksidan tanaman *A. spinosus*.

Ekstrak DCM memberikan nilai tertinggi pada total fenolik (74,656 mg AGE/g BK), total flavonoid (22,337 mg KE/g BK), aktivitas antioksidan metoda DPPH (0,374 mg/mL), dan aktivitas antioksidan penangkapan radikal NO (0,025 mg/mL).

Aktivitas antioksidan metoda FRAP tertinggi pada ekstrak metanol (1,022 mmol Fe^{+2} /g BK), sedangkan

untuk persen hambatan aktivitas antioksidan metoda FTC tertinggi pada ekstrak *n*-heksana (27,615 %).

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Ibu Dr. Christine Jose dan Bapak Dr. Hilwan Yuda Teruna, M.Si, Apt selaku dosen pembimbing yang telah banyak meluangkan waktu memberikan bimbingan, dukungan, dan petunjuk selama penelitian dan penulisan karya ilmiah ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Alfianti, U. 2012. *Penentuan Aktivitas Antioksidan Pada Kangkung (Ipomea Reptans Poir) yang Ditanam Secara Organik dan Konvensional*. Skripsi, Jurusan Kimia Fakultas Matematika MIPA Universitas Riau.
- Bulbul, I.J., Nahar, L., Ripa, F.A., Haque, O. 2011. Antibacterial, Cytotoxic and Antioxidant Activity of Choloform, n-hexane and Ethyl Acetate of Plant *Amaranthus spinosus*. *International Journal of Pharm Tech Research*. Vol. **3(3)**, pp. 1675-1680.
- Chang, S.K.C., Xu, B.J., dan Yuan, S.H. 2007. Comparative Analyses Of Phenolic Composition, Antioxidant Capacity, and Color of Cool Season Legumes and Other Selected Food Legumes. *Journal of Food Science* **72(2)**: S167.

- Halliwell, B and Gutteridge, J.M.C., 2000. *Free Radical in Biology and Medicine*. Oxford University Press. New York.
- Hernani dan Rahardjo M. 2005. *Tanaman Berkhasiat Antioksidan*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Higa, T. Dan Parr, J.F. 1994. *Beneficial and Effective Microorganism for A Suistainable Agriculture and Environtment*. Japan, International Nature Farming. Thailand, 17-21 Oktober 1989.
- Ibrahim. 2011. *Analisis Total Fenol, Total Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Sayuran Pakchoy (Brassica chinensis L.) dengan Perawatan Ekstrak Bawang Putih Terfermentasi*. Skripsi, Jurusan Kimia Fakultas MIPA Universitas Riau.
- Kumar, B.S.A., Lakshman, K., KN, J., Shekar, D.S., Kumar, A.A., Manoj, B. 2010. *Antioxidant and antipyretic properties of methanolic extract of Amaranthus spinosus leaves*. Asian Pacific Journal Of Tropical Medicine. 702-706.
- Kyan, T., Shintani, M., Kanda, S., Sakurai, M., Ohashi, H., Fujisawa, A., et al. 1999. *Kyusei Nature Farming and The Technology of Effective Microorganisms*. (R. Sangakkara, Penyunt.) Atami, Japan: INFRC.
- Lindsey, K.L., Motsei, M.L. dan Jäger, A.K. 2002. Screening of south African food plants for antioxidant activity. *Journal of Food Science*. **67 (6)**: 2129-2131.
- Mustafa, R.A., Hamid, A.A., Mohamed, S. dan Abu Bakar, F. 2010. Total phenolic compounds, flavonoids, and radical scavenging activity of 21 selected tropical plants. *Journal of Food Science*. **75 (1)**: C28-C35.
- Nurkholidah. 2005. *Perbandingan Kandungan Antioksidan pada Tanaman Selada (Lactuca Sativa) yang Ditanam Secara Organik dan Konvensional*. Skripsi, Jurusan Kimia Fakultas MIPA Universitas Riau.
- Pambayun, R., Gardjito, M., Sudarmadji, S., Kuswanto, K. R. 2007. *Kandungan Fenol dan Sifat Antibakteri dari Berbagai Jenis Ekstrak Produk Gambir (Uncaria gambir Roxb)*. Majalah Farmasi Indonesia **18 (3)**.
- Raisandi, R. 2012. *Penentuan Fenolik, Vitamin C dan Aktivitas Antioksidan Tanaman Selada (Lactuca sativa l.) yang Dirawat dengan Ekstrak Tanaman Terfermentasi*. Skripsi, Jurusan Kimia Fakultas Matematika MIPA Universitas Riau.
- Sonawane, I.L., Nirmal, S.A., Dhasade, V.V., Rub, R.A. dan Mandal, S.C. 2010. Antioxidant effect of *Tephrosia purpurea* L. roots. *International Journal of*

Pharmaceutical Science and Research. **1** (5): 57-60.

Suryanti, M. 2010. *Analisis Kandungan Polifenol, Flavonoid, dan Aktivitas Antioksidan pada Tanaman Bangun-Bangun (Coleus amboinicus) dengan Perawatan menggunakan Ekstrak Tanaman Terfermentasi*. Skripsi, Jurusan Kimia Fakultas Matematika MIPA Universitas Riau.

Taie, H.A.A., El-Mergawi, R. dan Radwan, S. 2008. Isoflavonoid, flavonoid, phenolic acid, and antioxidant activity of soybean seeds as affected by organic and bioorganic fertilization. *Journal of Agricultural and Environmental Science*. **4** (2): 207-213.

Tsai, P.J., Tsai, T.H., Yu, C.H. dan Ho, S.C. 2007. Comparison of NO-Scavenging and NO-Suppressing Activities of Different Herbal Teas with Those of Green Tea. *Journal of Food Chemistry*. **103** : 181-187.

Vichitphan, S., Vichitphan, K., Sirikhansaeng, P. 2007. Flavonoid content and antioksidan activity of krachai-dum (*Kaemferia parviflora*) Wine. *Journal of Science Technology*. (7): 97-105

Yoshihara, D., Fujiwara, N., Suzuki, K. 2010. Antioxidants: Benefits and risks for long-term health. *Journal Maturitas*. 05(001): 1-5