

PENGARUH UKURAN PARTIKEL SERBUK DAUN KITOLOD (*Isotoma longiflora* L.) TERHADAP KADAR TOTAL FENOLIK

Septiana Laksmi Ramayani*, Villian Septiana, Muhammad Anugerah Alam Waris

Jurusan Farmasi, Poltekkes Kemenkes Surakarta, Surakarta, Indonesia

*e-mail koresponden: septianalr@gmail.com

Diterima: 14 April 2023

Disetujui: 31 Mei 2023

Dipublikasikan: 26 Juni 2023

Abstrak

Penelitian ini memiliki tujuan untuk mengetahui pengaruh antara perbedaan ukuran partikel serbuk dan kadar fenolik ekstrak daun kitolod. Serbuk daun kitolod diayak dengan ayakan mesh 16 dan 18. Pelarut yang digunakan dalam ekstraksi serbuk simplisia daun kitolod yaitu etanol 96% sedangkan metode yang digunakan adalah maserasi. Senyawa fenolik diidentifikasi menggunakan pereaksi FeCl_3 1%. Kadar total fenolik ditentukan dengan metode Folin Ciocalteu dan baku pembanding asam galat. Penelitian menunjukkan bahwa perbedaan ukuran partikel serbuk memiliki pengaruh yang signifikan terhadap kadar total fenolik ekstrak daun kitolod. Kadar total fenolik pada ukuran partikel mesh 16 lebih besar dibandingkan ukuran partikel mesh 18.

Kata Kunci: Daun kitoloid, Ukuran partikel, Senyawa Fenolik

Abstract

This study aims to determine the effect of differences in powder particle size and phenolic content of kitolod leaf extract. Kitolod leaf powder was sieved with mesh 16 and 18. The solvent used in the extraction of kitolod leaf simplisia powder was 96% ethanol while the method of extraction was maceration. Phenolic compounds were identified by 1% FeCl_3 reagent. The total phenolic content was determined using the Folin Ciocalteu method and standard gallic acid as a reference. The research showed that the difference in powder particle size had a significant effect on the total phenolic content of kitolod leaf extract. The total phenolic content in mesh particle size 16 is significantly higher than mesh particle size 18.

Keywords: Kitolod leaf, Particle size, Phenolic compound

PENDAHULUAN

Staphylococcus aureus merupakan bakteri staphylocooal yang paling berbahaya. Bakteri ini merupakan bakteri gram positif dengan bentuk bola. *Staphylococcus aureus* sering menyebabkan infeksi kulit namun juga dapat menyebabkan pneumonia, infeksi katup jantung dan infeksi tulang¹. Ekstrak daun kitolod mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Daya hambat ekstrak daun kitolod pada konsentrasi ekstrak 150 mg/mL ditandai dengan terbentuknya zona bening disekitar kertas cakram sebesar 4,3 mm dan tergolong dalam kategori lemah².

Aktivitas antibakteri kitolod karena memiliki senyawa metabolit sekunder senyawa fenolik. Senyawa fenolik dalam menghambat bakteri sebagian dikaitkan dengan kerusakan membrane bakteri, faktor virulensi seperti enzim dan toksin yang dihambat serta penekanan pembentukan biofilm bakteri³. Kadar total

fenolik dalam ekstrak daun kitolod adalah 1,46 ppm⁴. Aktivitas penghambatan pertumbuhan bakteri dari ekstrak daun kitolod berkaitan dengan kadar senyawa fenolik dalam ekstrak.

Terdapat berbagai faktor yang dapat berpengaruh terhadap kuantitas senyawa aktif dalam ekstrak sehingga akan berpengaruh juga terhadap aktivitas yang dihasilkan. Ukuran partikel menjadi salah satu faktor yang mempengaruhi kuantitas senyawa aktif pada proses ekstraksi. Ukuran partikel berkaitan dengan luas permukaan kontak antara pelarut dan bahan. Ukuran partikel simplisia yang semakin kecil maka permukaan bidang kontak pelarut dan bahan semakin luas sehingga kontak bahan dan pelarut semakin besar dan penarikan senyawa aktif dalam simplisia lebih besar⁵. Namun di sisi lain, ukuran partikel yang halus lebih rentan terhadap aglomerasi yang dapat menghambat proses ekstraksi⁶. Penelitian ini memiliki

tujuan untuk melihat pengaruh antara ukuran partikel serbuk simplisia daun kitolod dan kadar total fenolik.

METODE PENELITIAN

Jenis penelitian eksperimental dengan rancangan acak lengkap. Variabel bebas yang digunakan adalah ukuran partikel serbuk simplisia daun kitolod, sedangkan variabel terikat yang digunakan adalah kadar total fenolik.

Bahan

Serbuk simplisia daun kitolod ukuran partikel mesh 16 dan 18, metanol, FeCl₃, Pereaksi Follin Cioalteau, Na₂CO₃ dan asam galat (Merck).

Alat

Alat gelas (*Pyrex*), bejana maserasi, Spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu UV-1800).

Prosedur Penelitian

Pembuatan simplisia

Daun kitolod diperoleh dari Desa Losari, Kecamatan Sumowono, Kabupaten Semarang. Daun kitolod dipilih dan diambil yang berwarna hijau tua, selanjutnya dibersihkan dengan air mengalir kemudian ditiriskan. Daun kitolod dikeringkan hingga kering, yang ditandai dengan bila diremas simplisia bergemerisik dan berubah menjadi serpihan. Simplisia daun kitolod yang dihasilkan diblender dan kemudian diayak dengan ukuran mesh 16 dan 18.

Ekstraksi

Sebanyak 50 gram serbuk daun kitolod mesh 16 dimaserasi menggunakan metanol sebanyak 250 mL.

Perendaman dilakukan selama 6 jam sambil diaduk menggunakan *mechanical shaker* tiap 30 menit, kemudian didiamkan selama 18 jam. Hasil ekstraksi disaring dipisahkan ampas dengan filtratnya. Ampas yang dihasilkan diremaserasi dengan cara yang sama menggunakan 250 mL metanol. Filtrat yang dihasilkan dikumpulkan dan diuapkan hingga diperoleh ekstrak kental. Ekstraksi serbuk simplisia daun kitolod mesh 18 dilakukan dengan cara yang sama pada serbuk simplisia daun kitolod mesh 16.

Uji kualitatif senyawa fenol

Senyawa fenol diidentifikasi menggunakan pereaksi FeCl₃ 1%.

Uji kuantitatif senyawa fenol

Senyawa fenol ditetapkan kadarnya menggunakan pereaksi Folin-Cioalteau dengan cara menambahkan masing-masing 1 mL larutan ekstrak dan larutan deret baku asam galat pada setiap tabung reaksi, 4 mL Na₂CO₃ 1 M dan 5 mL pereaksi Folin Cioalteau (1:10) ditambahkan pada masing-masing tabung. Inkubasi larutan dalam waktu 25 menit dan pada panjang gelombang 748,20 nm absorbanasi diukur menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Kadar fenolik total dapat dihitung dengan persamaan (1).

$$\text{Kadar Senyawa} = \frac{\text{konsentrasi} \times \text{volume ekstrak} \times \text{faktor pengenceran}}{\text{gram ekstrak}} \times 100\% \dots(1)$$

Analisis Data

Data kadar fenolik total dilakukan uji statistik dengan uji *Independent T-Test*.

Tabel 1. Organoleptis Ekstrak Serbuk Simplisia Daun Kitolod

Parameter	Mesh 16	Mesh 18
Bentuk	Ekstrak kental	Ekstrak kental
Bau	Khas kitolod	Khas kitolod
Warna	Hijau kehitaman	Hijau kehitaman
Rasa	Pahit	Pahit

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstrak serbuk simplisia daun kitolod ukuran mesh 16 dan 18 menghasilkan organoleptis yang sama. Perbedaan ukuran partikel tidak berpengaruh pada organoleptis ekstrak. Ekstraksi dilakukan menggunakan pelarut metanol. Daun kitolod yang diekstraksi menggunakan pelarut metanol menghasilkan rendemen dan kadar total fenolik yang lebih tinggi dibandingkan ekstraksi dengan pelarut

etanol⁷. Hasil organoleptis ekstrak serbuk simplisia daun kitolod dapat dilihat pada Tabel 1.

Identifikasi kualitatif ekstrak daun kitolod dilakukan dengan menggunakan pereaksi FeCl₃ 1%. Pereaksi FeCl₃ 1% merupakan pereaksi spesifik untuk senyawa fenol. Senyawa kompleks akan terbentuk sebagai hasil reaksi antara senyawa fenol dan pereaksi FeCl₃ 1%. Hasil identifikasi senyawa fenolik menunjukkan bahwa ekstrak daun kitolod baik dengan ukuran mesh 16 dan 18 positif mengandung senyawa

fenolik, yang ditunjukkan dengan terbentuknya senyawa kompleks yang berwarna hijau kehitaman setelah direaksikan dengan pereaksi FeCl₃ 1%. Hasil penelitian serupa ditunjukkan pada penelitian Setiyowati et al¹ yang menyebutkan bahwa ekstrak kitolod mengandung senyawa fenol. Uji kualitatif ekstrak serbuk simplisia daun kitolod dapat dilihat pada Tabel 2.

Uji kuantitatif senyawa fenolik dilakukan dengan menggunakan Spektrofotometer. Senyawa fenol adalah senyawa yang memiliki gugus kromofor

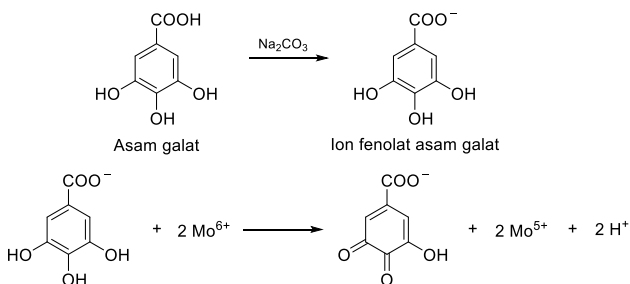
berupa cincin benzena yang mampu mengabsorpsi dalam daerah UV-sinar tampak dan memiliki absorpsi yang lebih kuat untuk berpindah ke panjang gelombang yang lebih panjang. Pereaksi yang digunakan pada uji kuantitatif senyawa fenolik adalah pereaksi Folin Ciocalteu. Pereaksi Folin Ciocalteu dibuat dengan campuran natrium tungstat, litium sulfat, natrium molibdat, asam klorida pekat, bromin, asam fosfat 85% dan air suling.

Tabel 2. Uji kualitatif Ekstrak Serbuk Simplisia Daun Kitolod

Ukuran partikel	Warna larutan ekstrak	Pereaksi	Warna larutan ekstrak + pereaksi
Mesh 16	Hijau	FeCl ₃	Hijau kehitaman
Mesh 18	Hijau		Hijau kehitaman

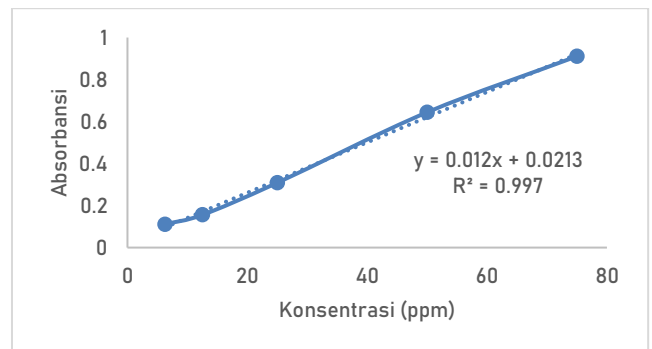
Kadar total fenolik ditentukan berdasarkan reaksi kolorimetri dari pereaksi Folin Ciocalteu yang banyak digunakan dalam metode Spektrofotometer. Reaksi kolorimetri menghasilkan senyawa kompleks berwarna biru yang dapat diukur pada panjang gelombang 765 nm. Reaksi membentuk kromofor biru yang dibentuk oleh kompleks fosfotungstik-fosfomolibdenum. Penyerapan maksimum kromofor bergantung pada larutan basa dan konsentrasi senyawa fenolik. Pereaksi ini dengan cepat terurai dalam larutan alkali sehingga membutuhkan pereaksi yang sangat banyak untuk mendapatkan reaksi yang lengkap. Kelebihan ini dapat mengakibatkan endapan dan kekeruhan yang tinggi, dan menghambat pengukuran secara spektrofotometer. Untuk mencegah masalah tersebut, maka senyawa fenolik bereaksi dengan reagen Folin Ciocalteu dalam suasana basa dengan penambahan Na₂CO₃ 7,5%⁸. Gambar reaksi asam galat dan Folin Ciocalteu dapat dilihat pada Gambar 1.

berifat murni dan stabil⁹. Hasil regresi linier larutan standar asam galat adalah $y = 0,012x + 0,0213$ dengan nilai koefisien relasi (R²) adalah 0,997. Nilai koefisien relasi yang semakin mendekati 1 menunjukkan semakin baik hubungan linearitas antara konsentrasi dan absorbansi yang dimiliki. Grafik hubungan konsentrasi dan absorbansi larutan standar asam galat dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 1. Reaksi Asam Galat dan Folin-Ciocalteu

Larutan standar yang digunakan pada uji kuantitatif senyawa fenolik adalah asam galat. Asam galat termasuk golongan asam fenol sederhana dan merupakan turunan asam hidroksibenzoat. Asam galat relatif lebih murah dibandingkan standar lainnya namun



Gambar 2. Grafik Hubungan Konsentrasi dan Absorbansi Larutan Standar Asam Galat

Kadar total fenolik ekstrak daun kitolod ditentukan berdasarkan persamaan regresi linier yang diperoleh, baik pada serbuk ukuran partikel 16 maupun 18, yaitu dengan memasukkan nilai absorbansi sebagai nilai y, sehingga diketahui nilai konsentrasinya (x). Hasil uji statistik menunjukkan bahwa data terdistribusi normal ($p > 0,05$) dan homogen ($p > 0,05$) sehingga dilanjutkan dengan uji Independent T-Test, karena dua variabel yang diujikan tidak berpasangan. Hasil analisa statistik menunjukkan bahwa perbedaan ukuran partikel memiliki pengaruh yang signifikan pada kadar total fenolik ekstrak daun kitolod.

Tabel 3. Kadar Total Fenolik Ekstrak Serbuk Simplisia Daun Kitolod

Ukuran partikel	Kadar Total Fenolik (mg GAE/100 g ekstrak)	Rata-rata Kadar Total Fenolik (mg GAE/100 g ekstrak)
Mesh 16	713.056	718,333±12,262 ^a
	735.278	
	706.667	
Mesh 18	609.306	599,352±9,074 ^b
	587.361	
	601.389	

* *superscript* yang berbeda menunjukkan p<0,05

Hasil analisis statistika secara *Independent T-Test* menunjukkan bahwa perbedaan ukuran partikel berpengaruh signifikan terhadap kadar total fenolik serbuk simplisia daun kitolod yang ditunjukkan dengan nilai p<0,05 (*superscript* berbeda). Ukuran partikel mesh 16 menghasilkan kadar total fenolik lebih besar dibandingkan ukuran partikel mesh 18. Mesh 16 menunjukkan bahwa dalam 1 inchi terdapat 16 lubang, sedangkan mesh 18 dalam 1 inchi terdapat 18 lubang. Hal ini menunjukkan bahwa ukuran partikel mesh 16 memiliki ukuran partikel yang lebih besar dibandingkan ukuran partikel mesh 18. Dalam penelitian ini menunjukkan bahwa ukuran partikel yang lebih besar menghasilkan kadar total fenolik yang lebih besar. Ukuran partikel yang terlalu kecil dapat meningkatkan daya kohesi antar partikel sehingga terjadi agregat-agregat pada proses ekstraksi. Agregat yang terbentuk menyebabkan luas permukaan semakin kecil sehingga kontak dengan pelarut kecil dan kemampuan menyari menjadi lebih kecil⁵. Hasil serupa ditunjukkan pada penelitian Sakalaty et al⁶ semakin besar ukuran partikel maka kandungan hemiselulosa pada kulit singkong semakin besar. Kadar total fenolik ekstrak serbuk simplisia daun kitolod dapat dilihat pada Tabel 3.

SIMPULAN

Perbedaan ukuran partikel serbuk simplisia daun kitolod berpengaruh terhadap kadar total fenolik. Ukuran partikel mesh 16 menghasilkan kadar total fenolik lebih besar dibandingkan ukuran partikel mesh 18.

SARAN

Pengujian aktivitas untuk mengetahui pengaruh ukuran partikel terhadap aktivitas yang dihasilkan sehingga diketahui korelasi antara kadar senyawa dan aktivitas farmakologis yang dihasilkan.

DAFTAR PUSTAKA

1. Setiyowati, H., Ramayani, S.L., 2022. Potensi Gel Handsanitizer Ekstrak Daun Kitolod (*Isotoma longiflora* L.) Sebagai Antibakteri Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Jamu Kusuma*, 2(1), 8–13.
DOI: <https://doi.org/10.37341/JURNALJAMUKUSUMA.V2I1.26>
2. Mareintika, R. 2021. Uji Efek Pemberian Antibakteri ekstrak Daun Kitolod (*Isotoma Longiflora* (L) Presl.) terhadap *Staphylococcus Aureus*. *Jurnal Mediuka Hutama*, 2(4), 1084–1088.
3. Miklasińska-Majdanik, M., Kępa, M., Wojtyczka, R.D., Idzik, D., Wąsik, T.J. 2018. Phenolic Compounds Diminish Antibiotic Resistance of *Staphylococcus Aureus* Clinical Strains. *Int J Environ Res Public Health*, 15(10). 1-18.
DOI: <https://doi.org/10.3390/IJERPH15102321>
4. Egarani, G., Egarani, G.R., Kasmiyati, S., Kristiani, E.B.E. 2020. The Antioxidant Content and Activity of Various Plant Organs of Kitolod (*Isotoma longiflora*). *Biosaintifika: Journal of Biology & Biology Education*, 12(3), 297–303.
DOI: <https://doi.org/10.15294/biosaintifika.v12i3.23888>
5. Blainski, A., Lopes, G.C., De Mello, J.C.P. 2013. Application and Analysis of the Folin Ciocalteu Method for the Determination of the Total Phenolic Content from *Limonium Brasiliense* L. *Molecules*, 18(6), 6852–6865.
DOI: <https://doi.org/10.3390/MOLECULES18066852>
6. Ramayani, S.L., Ratna, C., Hartiningtyas, M., 2022. Pengaruh Ukuran Partikel dan Lama Penyulingan Terhadap Jumlah Rendemen Minyak Atsiri Serbuk Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*). *JKPharm*, 4(2), 75–79.
DOI: <https://doi.org/10.36086/jpharm.v4i2.1450>
7. Sakalaty, E., Suryanto, E., Koleangan, H.S.J. 2021. Pengaruh Ukuran Partikel Terhadap Kandungan

- Serat Pangan Dan Aktivitas Antioksidan Dari Kulit Singkong (*Manihot esculenta*). *Chemistry Progress*, 14(2), 146.
DOI: <https://doi.org/10.35799/cp.14.2.2021.38960>
8. Ramayani, S.L., Octaviana, R.W., Asokawati, S.S. 2021. Pengaruh Perbedaan Pelarut Terhadap Kadar Total Fenolik Dan Kadar Total Flavonoid Ekstrak Daun Kitolod (*Isotoma longiflora* (L.)). *Jurnal Akademi Farmasi Prayoga*. 6(2), 1-11.
DOI: <https://doi.org/10.56350/jafp.v6i2.68>
9. Malik, A., Hamidu, L., Najib, A. 2021. Determination of Total Phenolic Content of The Stem Bark Extract of Nyirih (*Xylocarpus granatum* J. Koeing) Using UV-Vis Spectrophotometry Method. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 8(3), 12.-17.
DOI: <https://doi.org/10.33096/jffi.v8i3.728>