

## Validasi Metode MPM untuk Penentuan Kandungan Antioksidan dalam Sampel Herbal serta Perbandingannya dengan Metode PM, FRAP dan DPPH

YeFrída<sup>1\*</sup>, Hamzar Suyani<sup>1</sup>, Hermansyah Aziz<sup>2</sup>, Mai Efdi<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Laboratorium Kimia Analitik, Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Andalas

<sup>2</sup>Laboratorium Kimia Fisika, Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Andalas

<sup>3</sup>Laboratorium Kimia Organik Bahan Alam, Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Andalas

Corresponding Author:  
YeFrída  
yefanwar@gmail.com

Received: January 2020  
Accepted: March 2020  
Published: March 2020

©YeFrída et al. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

### Abstract

The Modified Phenanthroline Method (MPM) has been validated for determination of antioxidant content in herb samples. Validation was done using Relative Standard Deviation (RSD) and percentage of recovery. The RSD and percentage of recovery for herb samples are 3.13% and 98.6%, respectively. Based on these values, MPM method is valid for determining antioxidant content in herb samples. T test shows no significant differences of antioxidant content using any of these methods, MPM, PM, FRAP or DPPH, at a 95% confidence level. MPM method shows a very strong correlation with PM and FRAP method. While with DPPH and TPC shows is strong.

**Keywords:** *MPM method, antioxidant content, method comparison, method correlation*

### Pendahuluan

Atom atau molekul yang mengandung satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan disebut sebagai radikal bebas. Radikal bebas ini biasanya berupa spesies oksigen atau nitrogen reaktif. Contoh radikal bebas yaitu radikal hidroksil, radikal hidroperoksil, radikal lipid, radikal nitrogen oksida, radikal kation nitrosil dan lain-lain<sup>[1]</sup>. Radikal bebas dapat dihasilkan dari sumber endogen maupun eksogen. Sumber endogen misalnya berasal dari respirasi mitokondria yang menghasilkan radikal superoksida anion, otoolsidasi molekul seperti haemoglobin, mioglobin dan lain lain

yang menghasilkan radikal superoksida<sup>[2]</sup>. Radikal bebas yang berasal dari sumber eksogen misalnya pernapasan dengan menggunakan udara tercemar, partikel anorganik dalam udara, asap dari rokok tembakau, pelarut organik yang dipakai di industri, obat-obatan seperti obat kanker, penghilang rasa sakit dan lain-lain<sup>[3]-[5]</sup>. Radikal bebas dapat merusak semua biomolekul seperti lipid, protein, karbohidrat dan asam nukleat. Lipid merupakan target utama kerusakan oksidatif yang dipicu oleh radikal bebas. Lipid peroksidasi menyebabkan kerusakan membran sel dengan merobah fluiditas dan permiabelitas membran. Lipid peroksidasi dimediasi oleh

radikal bebas melalui sederetan reaksi rantai yang melibatkan inisiasi, propagasi dan terminasi. Radikal bebas yang dapat menginisiasi lipid peroksidasi meliputi radikal hidroksil (paling reaktif), radikal peroksil dan peroksinitrit. Ion-ion logam seperti ion  $\text{Cu}^+$  dan  $\text{Fe}^{2+}$  bisa berperan sebagai katalis dalam rantai inisiasi ini<sup>[6]</sup>.

Radikal bebas dapat menyebabkan sejumlah penyakit seperti kanker<sup>[7]</sup>, jantung<sup>[8]</sup>, kelainan syaraf<sup>[9]</sup>, Alzheimer's<sup>[10]</sup>, Parkinson's<sup>[11]</sup> dan lain-lain. Agar tubuh dari terlindung dari pengaruh buruk radikal bebas maka harus mengkonsumsi antioksidan baik yang berasal dari makanan maupun dari suplemen. Makanan yang mengandung antioksidan dipercaya dapat mencegah sejumlah penyakit berdasarkan bukti-bukti yang ada. Para peneliti menyatakan bahwa kombinasi antioksidan lebih baik dari antioksidan tunggal dan lebih efektif untuk perlindungan jangka panjang. Antioksidan dapat meningkatkan kualitas hidup manusia dengan cara mencegah atau menunda timbulnya penyakit-penyakit degeneratif, disamping itu juga dapat mengurangi biaya yang dibutuhkan untuk menjaga kesehatan<sup>[12]</sup>.

Masyarakat sejak zaman dahulu sudah menggunakan ekstrak tumbuhan sebagai bahan obat disebabkan karena kaya akan senyawa bioaktif seperti alkaloid, flavonoid, senyawa polifenol dan lain-lain<sup>[13],[14]</sup>. Salah satu senyawa metabolit sekunder yang ada pada tanaman adalah senyawa-senyawa yang bersifat sebagai antioksidan. Berdasarkan hal ini, World Health Organization (WHO) memposisikan penggunaan bahan-bahan ini untuk pengobatan. Disamping itu mereka juga memberikan aturan tentang kualitas, keamanan dan keefisienan obat-obat herbal ini. Fokus perhatian dunia terletak pada produksi yang berkelanjutan dan keefisienan herbal ini<sup>[15]</sup>.

Penentuan kandungan antioksidan dalam herbal telah banyak dilakukan. Jaradat *et al* (2017)<sup>[16]</sup> telah meneliti kandungan antioksidan dalam herbal *Ononis pubescens* L. Peneliti menemukan bahwa fraksi aseton dari tumbuhan ini mempunyai kandungan

antioksidan yang tinggi dibandingkan dengan fraksi n-heksan dan metanol. Vyas *et al.*, (2010)<sup>[17]</sup> menentukan kandungan antioksidan dalam jambu biji. Ojezele *et al* (2016)<sup>[18]</sup> meneliti kandungan antioksidan dari ekstrak etanol dan air dari daun, biji dan buah tanaman *Annona muricata* Linn. Penentuan kandungan antioksidan pada penelitian tersebut dilakukan menggunakan metode DPPH. Metode DPPH merupakan metode yang paling umum digunakan untuk penentuan kandungan antioksidan dalam sampel alam. Hal ini disebabkan oleh karena metode ini praktis dan sederhana.

Pada penelitian ini digunakan metode *Modified Phenanthroline Method* (MPM) untuk penentuan kandungan antioksidan dalam sampel herbal, yang merupakan modifikasi dari metode *Phenanthroline Method* (PM). Metode ini telah divalidasi untuk penentuan kandungan antioksidan dalam buah dan sayur. Metode ini merupakan metode yang valid, teliti dan akurat<sup>[19]</sup>. Disamping itu juga dilakukan perbandingan metode dengan metode PM, FRAP dan DPPH serta korelasi antar metode tersebut.

## Metode Penelitian

### Bahan kimia

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah asam askorbat (merck), asam galat (Merck), troloks (Sigma),  $\text{FeSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (Merck),  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (Merck), 1.10-fenantrolin klorida monohidrat (Sigma), TPTZ (Sigma), asam asetat (Merck), natrium asetat (Merck), DPPH (Sigma), reagen Folin-Ciocalteu (Sigma),  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (Merck), metanol (Merck) dan akuades.

### Peralatan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah spektrofotometer UV-Vis (PD-303 S Spectrophotometer), neraca analitis, oven dan alat-alat gelas laboratorium.

### Sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah daun alpukat (*Persea americana leaf*), daun jambu biji (*Psidium guajava leaf*), daun

sirsak (*Annona muricata leaf*), daun sirih (*Piper betle leaf*), daun seledri (*Apium graveolens*), daun rambutan (*Nephelium lappaceum L. leaf*), daun sereh (*Cymbopogon citratus leaf*), daun srikaya (*Annona squamosa leaf*), daun suruhan (*Peperomia pellucida L. leaf*) dan daun kembang sepatu (*Hibiscus rosa-sinensis L. leaf*). Semua sampel yang digunakan dibeli dari pasar tradisional di Kota Padang, Sumatera Barat, Indonesia.

## Prosedur penelitian

### *Perlakuan terhadap sampel*

Sampel dibersihkan dan dipotong kecil-kecil lalu ditimbang sebanyak  $\pm 2$  g. Sampel dimaserasi dengan menggunakan pelarut metanol atau air selama 2 jam. Campuran disaring dengan menggunakan kertas saring. Filtrat yang didapatkan digunakan untuk penentuan kandungan antioksidan.

### *Kurva kalibrasi standar*

Kurva kalibrasi standar dibuat dengan menggunakan larutan  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (0.05 – 0.5 mM) untuk metode MPM, PM and FRAP, sementara untuk penentuan kandungan fenolik total digunakan larutan asam galat (50 – 300) mg/L.

### *Penentuan kandungan antioksidan dalam sampel dengan metode MPM*

Ke dalam tabung reaksi dimasukkan 1 mL fenantrolin 0.2% kemudian ditambahkan 1 mL  $\text{FeCl}_3$  0.1%, 2 mL akuades dan 1 mL ekstrak sampel. Larutan dikocok, kemudian didiamkan selama 20 menit. Absorbans diukur pada panjang gelombang 510 nm dengan spektrofotometer UV/Vis. Analisis ini dilakukan dengan 3 kali ulangan<sup>[19]</sup>.

### *Penentuan kandungan antioksidan dengan metode PM*

Ke dalam labu ukur 10 mL dimasukkan 0.5 mL fenantrolin 0.5% kemudian ditambahkan 1 mL  $\text{FeCl}_3$  0.2% dan 0.6 mL ekstrak sampel. Volume larutan dicukupkan hingga 10 mL dengan metanol. Larutan dikocok, kemudian

didiamkan selama 20 menit. Absorbans diukur pada panjang gelombang 510 nm dengan spektrofotometer UV/Vis. Analisis ini dilakukan dengan 3 kali ulangan<sup>[20]</sup>.

### *Penentuan kandungan antioksidan dengan metode FRAP*

Ke dalam labu ukur 10 mL dimasukkan 2 mL reagen FRAP (2.5 mL  $\text{FeCl}_3$  20 mM + 2.5 mL TPTZ 10 mM dilarutkan dalam 25 mL bufer asetat pH 3.65) kemudian ditambahkan 0.3 mL ekstrak sampel. Volume larutan dicukupkan hingga 10 mL dengan bufer. Larutan dikocok kemudian didiamkan selama 10 menit. Absorbans diukur pada panjang gelombang 510 nm dengan spektrofotometer UV/Vis. Analisis ini dilakukan dengan 3 kali ulangan<sup>[20]</sup>.

### *Penentuan kandungan antioksidan dengan metode DPPH*

Ke dalam tabung reaksi dimasukkan 1.0 mL ekstrak sampel lalu ditambahkan 0.5 mL metanol dan 1.5 mL DPPH 0.3 mM. Larutan dikocok, kemudian didiamkan selama 15 menit. Absorbans diukur pada panjang gelombang 510 nm dengan spektrofotometer UV/Vis. Analisis ini dilakukan dengan 3 kali ulangan<sup>[21]</sup>.

### *Penentuan TPC*

Ke dalam tabung reaksi ditambahkan 4 mL  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  2% kemudian ditambahkan 0.2 mL ekstrak sampel. Lalu ditambahkan 0.2 mL reagen Folin-Ciocalteu : metanol (1:1). Larutan dikocok dan didiamkan selama 30 menit. Absorbans diukur pada panjang gelombang 750 nm dengan spektrofotometer UV/Vis. Analisis ini dilakukan dengan 3 kali ulangan<sup>[20]</sup>.

Untuk metode MPM, PM dan FRAP, kandungan antioksidan dinyatakan sebagai mmol Fe/g DW, sedangkan untuk metode DPPH dinyatakan sebagai  $\mu\text{mol AA/g DW}$ .

### *Analisis statistik*

Analisis statistik deskriptif dilakukan dengan menggunakan Microsoft Excell. Data

dinyatakan sebagai rata-rata  $\pm$  standard deviasi yang didapatkan dari 3 kali ulangan.

## Hasil dan Diskusi

### Validasi metode

#### Nilai RSD

Nilai RSD ekstrak metanol herbal yang didapatkan untuk metode MPM dan PM adalah  $3.13 \pm 1.50\%$  dan  $3.44 \pm 1.07\%$ , berturut-turut (Tabel 1). Berdasarkan uji t didapatkan nilai p (0.491)  $>$   $\alpha$  (0.05), berarti tidak ada perbedaan nyata antara nilai RSD herbal antara metode MPM dan PM.

Nilai RSD untuk sampel buah, sayur dan herbal dengan menggunakan metanol atau akuades sebagai pelarut adalah  $<$  5%. Nilai ini didapatkan untuk metode MPM maupun PM. Nilai RSD ini memenuhi persyaratan nilai RSD yang diperbolehkan untuk analisis yaitu kecil dari 6%<sup>[22]</sup>.

Peneliti-peneliti lain mendapatkan nilai RSD yang berbeda-beda. Szydłowska-Czerniak *et al.*, (2008)<sup>[20]</sup> menggunakan metode fenantrolin untuk menentukan kandungan antioksidan dalam sampel minyak sayur yang diekstrak dengan aseton dan metanol, nilai RSD yang didapatkan adalah sebesar (0.8 – 4.6%) dan (0.9 – 4.9%), berturut-turut. Pengujian dengan metode FRAP didapatkan nilai RSD sebesar (0.7 – 4.0%) dan (0.6 – 4.0%) untuk pelarut aseton dan metanol, berturut-turut. Szydłowska-Czerniak *et al.*, (2008)<sup>[20]</sup> mendapatkan nilai RSD sebesar (0.49 – 4.37%) dan (0.56 – 3.71%) untuk penentuan kandungan antioksidan dalam sampel *rapeseed* dan *olive oil* dengan menggunakan metode ORAC dan FRAP, berturut-turut. Szydłowska-Czerniak *et al.*, (2013) dengan menggunakan metode AgNP mendapatkan nilai 1.4 – 4.4%) sedangkan dengan menggunakan metode FRAP modifikasi, DPPH dan FC didapatkan nilai 1.0 – 4.4%, 0.7 – 2.1% dan 0.8 – 3.6%, berturut-turut. Nilai RSD yang didapatkan hampir sama dengan yang didapatkan pada penelitian ini yaitu  $<$  5%.

**Tabel 1.** Nilai RSD sampel herbal

No	Sampel	RSD (%)	
		MPM	PM
1	Daun Alpukat ( <i>Persea americana</i> )	2,32	2,60
2	Daun Jambu Biji ( <i>Psidium guajava</i> )	0,00	2,95
3	Daun Sirsak ( <i>Annona muricata</i> )	3,48	3,45
4	Daun Sirih ( <i>Piper betle</i> )	4,89	3,60
5	Daun Seledri ( <i>Apium graveolens</i> )	3,69	3,29
6	Daun Rambutan ( <i>Nephelium lappaceum L.</i> )	1,92	4,44
7	Daun Sereh ( <i>Cymbopogon citratus</i> )	3,81	3,54
8	Daun Srikaya ( <i>Annona squamosa</i> )	2,25	4,45
9	Daun Suruhan ( <i>Peperomia pellucida L.</i> )	4,36	1,18
10	Daun Kembang Sepatu ( <i>Hibiscus rosa-sinensis L.</i> )	4,55	4,90

**Tabel 2.** Nilai perolehan kembali sampel herbal

No	Sampel	Perolehan kembali (%)	
		MPM	PM
1	Daun Alpukat ( <i>Persea americana</i> )	99	93
2	Daun Jambu Biji ( <i>Psidium guajava</i> )	94	94
3	Daun Sirsak ( <i>Annona muricata</i> )	102	94
4	Daun Sirih ( <i>Piper betle</i> )	93	97
5	Daun Seledri ( <i>Apium graveolens</i> )	93	98
6	Daun Rambutan ( <i>Nephelium lappaceum L.</i> )	107	99
7	Daun Sereh ( <i>Cymbopogon citratus</i> )	93	94
8	Daun Srikaya ( <i>Annona squamosa</i> )	107	109
9	Daun Suruhan ( <i>Peperomia pellucida L.</i> )	92	99
10	Daun Kembang Sepatu ( <i>Hibiscus rosa-sinensis L.</i> )	106	102

### Nilai perolehan kembali

Nilai perolehan kembali rata-rata ekstrak metanol sampel herbal yang didapatkan untuk metode MPM dan PM adalah  $98.6 \pm 6.4\%$  dan  $97.6 \pm 4.9\%$ , berturut-turut (Tabel 2). Berdasarkan uji t untuk metode MPM dan PM didapatkan nilai  $p (0.04) < \alpha (0.05)$ , berarti terdapat perbedaan nyata antara nilai perolehan kembali sayur antara metode MPM dan PM.

Nilai perolehan kembali untuk sampel buah, sayur dan herbal dengan menggunakan metanol sebagai pelarut adalah  $100 \pm 10\%$ . Nilai ini didapatkan untuk metode MPM maupun PM. Nilai perolehan kembali ini memenuhi persyaratan nilai perolehan kembali yang diperbolehkan untuk analisis yaitu sebesar 90 – 108%<sup>[22]</sup>. Kandungan antioksidan total dalam ekstrak metanol sampel herbal

Kandungan antioksidan total dalam ekstrak metanol sampel herbal ditentukan dengan menggunakan metode MPM, PM, FRAP dan DPPH. Hal ini bertujuan untuk melihat perbandingan hasil yang didapatkan dengan

menggunakan metode MPM yang masih baru dengan metode PM, FRAP dan DPPH yang sudah umum digunakan sebagai metode penentuan kandungan antioksidan total dalam sampel. Metode MPM, PM dan FRAP merupakan metode yang berdasarkan pada reduksi besi dimana antioksidan akan mengalami reaksi oksidasi dengan adanya  $FeCl_3$  sedangkan  $FeCl_3$  akan mengalami reaksi reduksi menghasilkan ion  $Fe^{2+}$ . Ion yang terbentuk ini akan membentuk senyawa kompleks dengan reagen pengompleks yang digunakan dan serapannya diukur dengan menggunakan alat spektrofotometer. Metode DPPH merupakan metode penentuan antioksidan total dengan menggunakan reagen DPPH yang berfungsi sebagai penangkap radikal bebas.

### Perbandingan kandungan antioksidan antara metode MPM dengan PM

Uji t dilakukan dengan menggunakan data pada Tabel 3. Berdasarkan uji t didapatkan nilai  $p (0.37) > \alpha (0.05)$ , berarti kandungan antioksidan total dalam sampel herbal yang diekstrak dengan pelarut metanol, yang

ditentukan dengan metode MPM dan PM tidak berbeda nyata. Korelasi ( $r$ ) antara metode MPM dan PM dapat dilihat pada Gambar 1. Nilai  $R^2$  yang didapatkan 0.9501 dan nilai  $r = 0.9747$ . Nilai  $r$  ini menyatakan bahwa terdapat korelasi yang sangat kuat antara metode MPM dan PM dalam penentuan kandungan antioksidan total dalam sampel herbal yang diekstrak dengan pelarut metanol.

#### Perbandingan kandungan antioksidan antara metode MPM dengan FRAP

Uji  $t$  dilakukan dengan menggunakan data pada Tabel 3. Berdasarkan uji  $t$  didapatkan nilai  $p$  (0.25) > nilai  $\alpha$  (0.05), berarti kandungan antioksidan total dalam ekstrak metanol herbal yang ditentukan dengan metode MPM dan FRAP tidak berbeda nyata. Korelasi ( $r$ ) antara metode MPM dan FRAP dapat dilihat pada Gambar 2. Nilai  $R^2$  yang didapatkan 0.9891 dan nilai  $r = 0.9945$ . Nilai  $r$  ini menyatakan bahwa

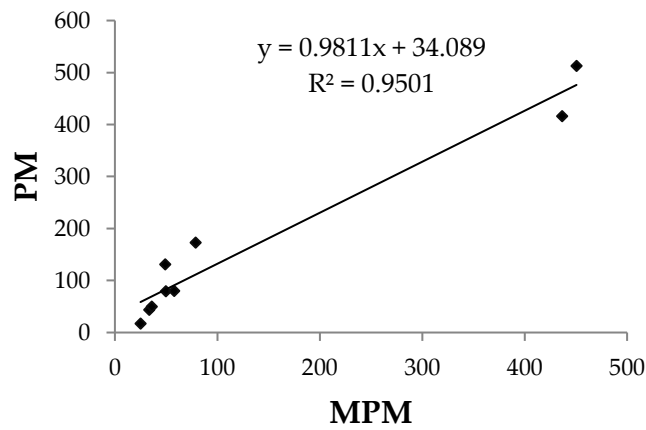
terdapat korelasi yang sangat kuat antara metode MPM dan PM dalam penentuan kandungan antioksidan total dalam sampel herbal dengan pelarut methanol.

#### Perbandingan kandungan antioksidan antara metode MPM dengan DPPH

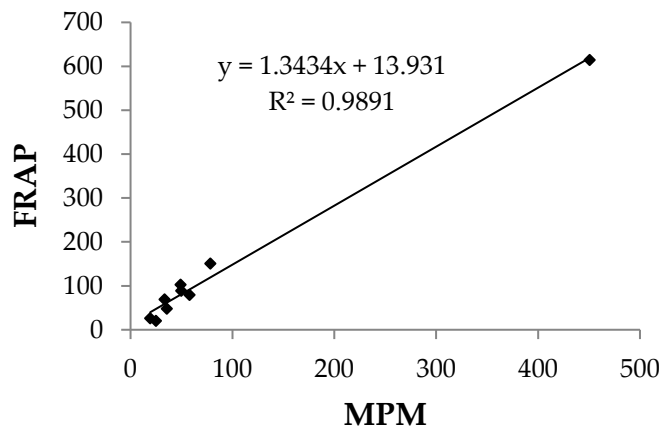
Uji  $t$  dilakukan dengan menggunakan data pada Tabel 3. Berdasarkan uji  $t$  didapatkan nilai  $p$  (0.129) > nilai  $\alpha$  (0.05), berarti kandungan antioksidan total yang ditentukan dengan metode MPM dan DPPH dengan pelarut metanol tidak berbeda nyata. Korelasi ( $r$ ) antara metode MPM dan DPPH dapat dilihat pada Gambar 3. Nilai  $R^2$  yang didapatkan 0.6504 dengan nilai  $r = 0.8065$ . Nilai  $r$  ini menyatakan bahwa terdapat korelasi yang kuat antara metode MPM dan DPPH dalam penentuan kandungan antioksidan total dalam sampel herbal dengan pelarut metanol.

**Tabel 3.** Kandungan antioksidan total ekstrak metanol sampel herbal dengan metode MPM, PM, FRAP dan DPPH

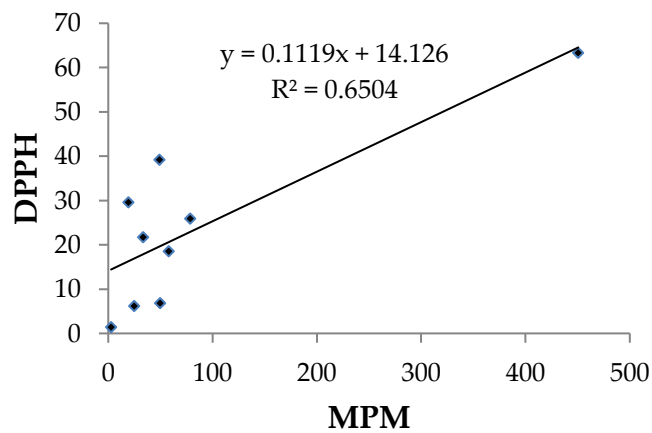
No	Sampel	Kandungan antioksidan			
		$(\mu\text{mol Fe/g DW})$ (mean $\pm$ SD)			$(\mu\text{mol AA/g DW})$ (mean $\pm$ SD)
		MPM	PM	FRAP	DPPH
1	Daun Alpukat ( <i>Persea americana</i> )	450.60 $\pm$ 15.0	512.70 $\pm$ 10.47	614.49 $\pm$ 14.14	63.38 $\pm$ 1.30
2	Daun Jambu Biji ( <i>Psidium guajava</i> )	49.80 $\pm$ 0.00	79.40 $\pm$ 5,02	88.95 $\pm$ 1.66	6.85 $\pm$ 0.06
3	Daun Sirsak ( <i>Annona muricata</i> )	25.00 $\pm$ 0.80	16.90 $\pm$ 0.78	19.94 $\pm$ 1.06	6.19 $\pm$ 0.09
4	Daun Sirih ( <i>Piper betle</i> )	49.20 $\pm$ 0.84	130.90 $\pm$ 10.07	103.68 $\pm$ 1.23	39.22 $\pm$ 1.62
5	Daun Seledri ( <i>Apium graveolens</i> )	130.75 $\pm$ 3,20	155.17 $\pm$ 1.89	235.00 $\pm$ 8.00	69.33 $\pm$ 0.58
6	Daun Rambutan ( <i>Nephelium lappaceum</i> L.)	436.67 $\pm$ 16.74	416.00 $\pm$ 19.00	537.33 $\pm$ 2.73	61.00 $\pm$ 1.00
7	Daun Sereh ( <i>Cymbopogon citratus</i> )	33.60 $\pm$ 0.95	43.50 $\pm$ 1.22	69.47 $\pm$ 1.91	21.74 $\pm$ 0.23
8	Daun Srikaya ( <i>Annona squamosa</i> )	58.10 $\pm$ 0.00	79.70 $\pm$ 2.73	126.54 $\pm$ 3.89	18.57 $\pm$ 0.00
9	Daun Suruhan ( <i>Peperomia pellucida</i> L.)	79.00 $\pm$ 0.00	173.00 $\pm$ 0.30	150.83 $\pm$ 1.42	25.67 $\pm$ 0.58
10	Daun Kembang Sepatu ( <i>Hibiscus rosasinensis</i> L.).	36.00 $\pm$ 1.00	49.67 $\pm$ 1.53	47.33 $\pm$ 0.17	-



Gambar 1. Korelasi antara metode MPM dan PM.



Gambar 2. Korelasi antara metode MPM dan FRAP.



Gambar 3. Korelasi antara metode MPM dan DPPH.

Perbandingan hasil penentuan kandungan antioksidan yang digunakan dengan beberapa metode dapat dilihat pada Tabel 4. Berdasarkan data ini dapat diambil kesimpulan bahwa penentuan kandungan antioksidan dengan menggunakan metode MPM, PM, FRAP dan DPPH memberikan hasil yang tidak berbeda nyata dengan korelasi yang sangat kuat dan kuat.

#### TPC dalam ekstrak metanol sampel herbal

Kandungan TPC dalam ekstrak metanol sampel herbal, dapat dilihat pada Tabel 5. Kandungan TPC yang didapatkan berkisar antara  $(5.25 \pm 0.17 - 121.16 \pm 1.30)$  mg AG/g DW. Kandungan TPC terbesar untuk ekstrak metanol didapatkan pada daun alpukat, sedangkan yang terendah didapatkan pada daun sirsak.

**Tabel 4.** Ringkasan nilai hasil uji t dan korelasi antara metode MPM dengan metode PM, FRAP dan DPPH pada ekstrak metanol sampel herbal

No	Perbandingan Metode	Hasil Uji T	Korelasi
1	MPM - PM	Tidak berbeda nyata	Sangat kuat
2	MPM - FRAP	Tidak berbeda nyata	Sangat kuat
3	MPM - DPPH	Tidak berbeda nyata	Kuat

**Tabel 5.** TPC dalam ekstrak sampel herbal

No	Sampel	Perolehan kembali (%) MPM PM
1	Daun Alpukat ( <i>Persea americana</i> )	121.16 $\pm$ 1.30
2	Daun Jambu Biji ( <i>Psidium guajava</i> )	11.54 $\pm$ 1.30
3	Daun Sirsak ( <i>Annona muricata</i> )	5.25 $\pm$ 0.17
4	Daun Sirih ( <i>Piper betle</i> )	29.88 $\pm$ 7.90
5	Daun Seledri ( <i>Apium graveolens</i> )	60.83 $\pm$ 1.30
6	Daun Rambutan ( <i>Nephelium lappaceum L.</i> )	61.07 $\pm$ 0.53
7	Daun Sereh ( <i>Cymbopogon citratus</i> )	18.60 $\pm$ 5.60
8	Daun Srikaya ( <i>Annona squamosa</i> )	22.62 $\pm$ 0.40
9	Daun Suruhan ( <i>Peperomia pellucida L.</i> )	27.21 $\pm$ 0.13
10	Daun Kembang Sepatu ( <i>Hibiscus rosa-sinensis L.</i> )	5.62 $\pm$ 0.06



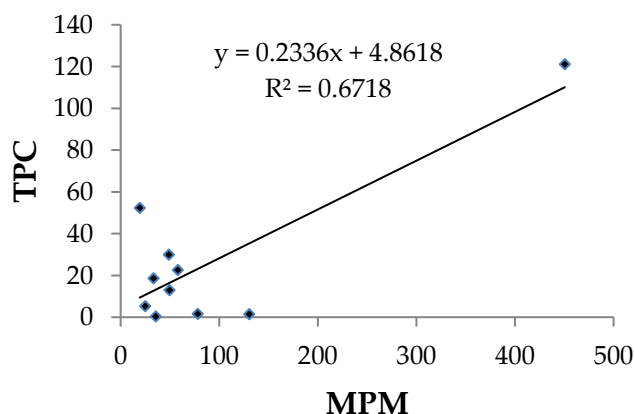
Untuk menentukan korelasi antara metode MPM dan TPC pada sampel herbal digunakan data pada Tabel 3 dan Tabel 5. Korelasi antara metode MPM dan TPC untuk ekstrak metanol sampel sayur dapat dilihat pada Gambar 4 di bawah ini. Nilai R<sup>2</sup> yang didapatkan 0.6718 dengan nilai r = 0.8193. Nilai r ini menyatakan bahwa terdapat korelasi yang kuat antara metode MPM dan TPC. Hal ini menunjukkan bahwa kandungan antioksidan dalam sampel herbal ini didominasi oleh senyawa-senyawa fenolik.

Korelasi antar metode penentuan kandungan antioksidan yang digunakan dengan TPC dapat dilihat pada Tabel 6. Nilai korelasi yang didapatkan berkisar antara (0.8193 – 0.9746)

yang menunjukkan korelasi yang kuat dan sangat kuat antara TPC dengan metode MPM, PM, FRAP dan DPPH. Hal ini menyatakan bahwa kandungan antioksidan di dalam sampel yang ditentukan dengan metode-metode tersebut didominasi oleh senyawa fenolik. Butsat dan Siriamornpun (2016) juga mendapatkan korelasi yang kuat dan sangat kuat antara TPC dengan metode DPPH, ABTS dan FRAP yang nilainya 0.805; 0.873 dan 0.975, berturut-turut. Szydłowska-Czerniak *et al.*, (2008) mendapatkan nilai korelasi antara metode FRAP dan TPC sebesar 0.9047 dan 0.8409 untuk sampel *rapeseed* dan *olive oil*, berturut-turut. Korelasi yang didapatkan antara metode tersebut dengan TPC juga termasuk korelasi yang kuat dan sangat kuat<sup>[23]</sup>.

**Tabel 6.** Nilai korelasi antara kandungan antioksidan beberapa metode dengan TPC dalam ekstrak metanol sampel herbal

No	Perbandingan Metode	Korelasi
1	MPM – TPC	0.8193
2	PM - TPC	0.9152
3	FRAP - TPC	0.9746
4	DPPH - TPC	0.9252



**Gambar 4.** Korelasi antara metode MPM dan TPC.

TPC yang didapatkan dalam sampel herbal pada penelitian ini maupun yang dilakukan oleh peneliti lain mempunyai nilai yang bervariasi. Hal ini dapat disebabkan oleh beberapa faktor yang menentukan dalam proses ekstraksi seperti jenis pelarut dan konsentrasinya, waktu dan suhu ekstraksi serta jenis dan ukuran sampel yang digunakan<sup>[24],[25]</sup>.

### Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat diambil kesimpulan bahwa metode MPM merupakan metode yang valid untuk penentuan kandungan antioksidan total dalam sampel herbal. Kandungan antioksidan total sampel herbal yang diuji dengan metode MPM tidak berbeda nyata dengan kandungan antioksidan total sampel herbal yang diuji dengan metode PM, FRAP dan DPPH. Korelasi antara metode MPM dengan metode PM, FRAP dan DPPH merupakan korelasi yang sangat kuat sedangkan dengan TPC merupakan korelasi yang kuat.

### Ucapan Terima Kasih

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Andalas yang telah memberikan bantuan dana penelitian melalui kontrak nomor : 02/UN.16.03.D/PP/FMIPA/2019 sehingga penelitian ini bisa terlaksana dengan baik.

### Daftar Pustaka

- Kunwar, A. & Priyadarsini, K. I., Free radicals, oxidative stress and importance of antioxidants in human health. *J Med Allied Sci*, **1(2)**: 53–60 (2011).
- Powers, S. K. & Jackson, M. J., Exercise-induced oxidative stress: Cellular mechanisms and impact on muscle force production. *Physiol. Rev.*, **88(4)**: 1243–1276 (2008).
- Li, X. Y., Gilmour, P. S., Donaldson, K. & MacNee, W., Free radical activity and pro-inflammatory effects of particulate air pollution (PM10) in vivo and in vitro. *Thorax*, **51(12)**: 1216–1222 (1996).
- P., L. J., Xi, L., Shengfeng, W., M.Y., L. M., D., B. G., R., M. M., R., C. F., *et al.*, Reducing personal exposure to particulate air pollution improves cardiovascular health in patients with coronary heart disease. *Environ. Health Perspect.*, **120(3)**: 367–372 (2012).
- Ho, H., Cheng, M. & Chiu, D. T., Glucose-6-phosphate dehydrogenase—from oxidative stress to cellular functions and degenerative diseases. *Redox Rep.*, **12(3)**: 109–118 (2007).
- Xu, Y., Gu, Y. & Qian, S. Y., An advanced electron spin resonance (ESR) spin-trapping and LC/(ESR)/MS technique for the study of lipid peroxidation. *Int. J. Mol. Sci.*, **13(11)**: 14648–14666 (2012).
- Kinnula, V. L. & Crapo, J. D., Superoxide dismutases in malignant cells and human tumors. *Free Radic. Biol. Med.*, **36(6)**: 718–744 (2004).
- Singh, U. & Jialal, I., Oxidative stress and atherosclerosis. *Pathophysiology*, **13(3)**: 129–142 (2006).
- Sas, K., Robotka, H., Toldi, J. & Vécsei, L., Mitochondria, metabolic disturbances, oxidative stress and the kynurenine system, with focus on neurodegenerative disorders. *J. Neurol. Sci.*, **257(1–2)**: 221–239 (2007).
- Smith, M. A., Rottkamp, C. A., Nunomura, A., Raina, A. K. & Perry, G., Oxidative stress in Alzheimer's disease. *Biochim. Biophys. Acta - Mol. Basis Dis.*, **1502(1)**: 139–144 (2000).
- Bolton, J. L., Trush, M. A., Penning, T. M., Dryhurst, G. & Monks, T. J., Role of quinones in toxicology. *Chem. Res. Toxicol.*, **13(3)**: 135–160 (2000).
- Alam, M. N., Bristi, N. J. & Rafiquzzaman, M., Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity. *Saudi Pharm. J.*, **21(2)**: 143–152 (2013).
- Bernhoft, A., Siem, H., Bjertness, E., Meltzer, M., Flaten, T. & Holmsen, E., *Bioactive compounds in plants—benefits and*

- risks for man and animals. *The Norwegian Academy of Science and Letters, Oslo*, (2010).
14. Ishrat, T., Hoda, M. N., Khan, M. B., Yousuf, S., Ahmad, M., Khan, M. M., Ahmad, A., *et al.*, Amelioration of cognitive deficits and neurodegeneration by curcumin in rat model of sporadic dementia of Alzheimer's type (SDAT). *Eur. Neuropsychopharmacol.*, **19(9)**: 636–647 (2009).
  15. Srivastava, J. K., Shankar, E. & Gupta, S., Chamomile: a herbal medicine of the past with a bright future. *Mol. Med. Rep.*, **3(6)**: 895–901 (2010).
  16. Jaradat, N. A., Al-Masri, M., Zaid, A. N., Hussein, F., Al-Rimawi, F., Mokh, A. A., Mokh, J. A., *et al.*, Phytochemical, antimicrobial and antioxidant preliminary screening of a traditional Palestinian medicinal plant, *Ononis pubescens* L. *Eur. J. Integr. Med.*, **14**: 46–51 (2017).
  17. Vyas, N., Tailang, M., Gavatia, N. P. & Gupta, B. K., Antioxidant potential of *Psidium guajava* Linn. *Int. J. PharmTech Res.*, **2(1)**: 417–419 (2010).
  18. Ojezele, O. J., Ojezele, M. O. & Adeosun, A. M., Comparative phytochemistry and antioxidant activities of water and ethanol extract of *Annona muricata* Linn Leaf, seed and fruit. *Adv. Biol. Res. (Rennes)*, **10(4)**: 230–235 (2016).
  19. Yefrida., Suryani, H., Alif, A., Azis, H. & Efdi, M., Modification of phenanthroline method to determine antioxidant content in tropical fruits methanolic extract. *Res. J. Chem. Environ.*, **22(4)**: 28–35 (2018).
  20. Szydłowska-Czerniak, A., Dianoczki, C., Recseg, K., Karlovits, G. & Sztyk, E., Determination of antioxidant capacities of vegetable oils by ferric-ion spectrophotometric methods. *Talanta*, **76(4)**: 899–905 (2008).
  21. Molyneux, P., The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarinn J. sci. technol*, **26(2)**: 211–219 (2004).
  22. Horwitz, W., *AOAC guidelines for single laboratory validation of chemical methods for dietary supplements and botanicals*. Gaithersburg, MD, USA: AOAC International, (2002).
  23. Guilford, J., *Fundamental statistics in psychology and education*, 3e éd. (1956).
  24. Chew, K. K., Khoo, M. Z., Ng, S. Y., Thoo, Y. Y., Aida, W. W. M. & Ho, C. W., Effect of ethanol concentration, extraction time and extraction temperature on the recovery of phenolic compounds and antioxidant capacity of *Orthosiphon stamineus* extracts. *Int. Food Res. J.*, **18(4)**: 1427 (2011).
  25. Naczki, M. & Shahidi, F., Extraction and analysis of phenolics in food. *J. Chromatogr. A*, **1054(1)**: 95–111 (2004).