

REVIEW ARTIKEL: KELEBIHAN DAN KETERBATASAN PEREAKSI FOLIN-CIOCALTEU DALAM PENENTUAN KADAR FENOL TOTAL PADA TANAMAN

Stefanny Agnes Salim^{1,2}, Febrina Amelia Saputri³, Nyi Mekar Saptarini³, Jutti Levita²

¹Program Studi Sarjana Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Padjadjaran

Jl. Raya Bandung-Sumedang KM 21 Sumedang 45363

²Departemen Farmakologi dan Farmasi Klinik, Fakultas Farmasi, Universitas Padjadjaran

Jl. Raya Bandung-Sumedang KM 21 Sumedang 45363

³Departemen Analisis Farmasi dan Kimia Medisinal, Fakultas Farmasi, Universitas Padjadjaran

Jl. Raya Bandung-Sumedang KM 21 Sumedang 45363

Diserahkan 26/06/2019, diterima 22/01/2020

ABSTRAK

Senyawa fenolat merupakan metabolit sekunder dari tanaman dan dibagi menjadi dua kelas yaitu asam fenolat dan polifenol. Senyawa-senyawa ini memiliki aktivitas antioksidan tinggi. Tujuan dari artikel review ini untuk memberikan informasi dan gambaran mengenai aplikasi senyawa fenolat dari tanaman, serta kelebihan dan kekurangan dari pereaksi Folin-Ciocalteu dalam menentukan kadar fenol total pada beberapa jenis tanaman. Metode pencarian literatur menggunakan PubMed, ScienceDirect, dan Google, dipilih beberapa artikel dan dibuka total 126 Artikel dari semua sumber pencarian, 46 diantaranya merupakan kriteria inklusi yang digunakan pada review artikel ini. Pada penentuan kadar fenolat total dalam ekstrak tanaman, senyawa fenolat bereaksi spesifik dengan pereaksi redoks (pereaksi Folin-Ciocalteu) membentuk senyawa kompleks fosfotungstat fosfomolibdenum berwarna biru yang dapat diukur pada panjang gelombang 760 nm. Kelebihan metode ini adalah sederhana dan cepat, namun kurang selektif karena dapat bereaksi dengan asam askorbat, gula, dan amin aromatik.

Kata Kunci: antioksidan, asam galat, Malvaceae, redoks, Zingiberaceae

ABSTRACT

Phenolic compounds are secondary metabolites of plants and are divided into two classes namely phenolic acid and polyphenols. These compounds have high antioxidant activity. The purpose of this article is to provide information and description about the application and analysis of phenolic compounds in plants using Folin-Ciocalteu reagent, as well as the advantages and disadvantages of Folin-Ciocalteu reagent in determining total phenolic levels. Methods of literature search using PubMed, ScienceDirect, and Google, have selected several articles and opened a total of 126 articles from all sources of search, 46 of 126 articles which is the inclusion criteria used in the review of this article. In determining the total phenolic level in plant extracts, phenol compounds react specifically with redox reagents (Folin-Ciocalteu reagent) to form blue phosphotungstate phosphomolibdenum complexes which can be measured at a wavelength of 760 nm. The advantages of this method are simple and fast, but less selective because it can react with ascorbic acid, sugar, and aromatic amines.

Keywords: antioxidant activity, gallic acid, redox, Malvaceae, Zingiberaceae

PENDAHULUAN

Senyawa fenolat memainkan peran penting dalam berkontribusi terhadap aktivitas

antioksidan secara keseluruhan. Senyawa fenolat ini memiliki potensi untuk melawan spesies oksigen reaktif (ROS) atau lebih dikenal

sebagai spesies radikal bebas, dengan menghambat inisiasi radikal bebas, memecah reaksi berantai dan menekan pembentukan radikal bebas seperti ion superoksida, radikal hidroksil, oksigen singlet dan hidrogen peroksida. Spesies radikal bebas reaktif ini dapat merusak sel tubuh jika terdapat dalam jumlah tinggi. Penyakit kanker, aterosklerosis, penuaan dan gangguan serebrovaskular dapat terjadi jika radikal bebas tersebut tidak ditangkal oleh konstituen selular, yaitu suatu senyawa antioksidan (Som *et al.*, 2019). Antioksidan merupakan senyawa yang dapat memperlambat, menghambat, atau mencegah oksidasi dari bahan yang mudah teroksidasi dengan cara mengikat radikal bebas dan mengurangi stres oksidatif (Dai dan Mumper, 2010).

Racun dan kandungan kimia dalam makanan, polusi, radiasi, dan lainnya dapat mengakibatkan meningkatnya produksi ROS sebagai hasil dari proses biokimia. Senyawa antioksidan dibutuhkan untuk menangani masalah ini. Namun, senyawa antioksidan sintetik seperti butil hidroksi toluen (BHT) dan butil hidroksi anisol (BHA) dapat menyebabkan beberapa efek samping (Fawole *et al.*, 2012). Telah dilaporkan bahwa antioksidan sintesis menyebabkan karsinogenik dan kerusakan hati pada hewan (Kumar dan Singh, 2010). Hal ini mengundang peneliti untuk mencari terapi alternatif lainnya yang berasal dari sumber alam (Sadino *et al.*, 2016).

Antioksidan alami mempunyai efikasi yang tinggi dan efek samping yang sedikit (Ahmed *et al.*, 2016). Pada penelitian Ondo *et al.* (2013) didapatkan semakin tingginya kandungan senyawa fenolat dalam tanaman menunjukkan potensi terapeutik antioksidan

yang kuat. Senyawa ini ditemukan dalam apel, mulberi, ceri, anggur, buah sitrat, bawang, bayam, paprika, *oat*, gandum, teh, anggur, dan cokelat.

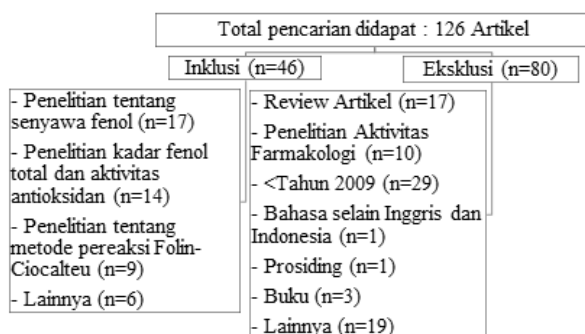
Beberapa metode telah digunakan untuk menentukan kadar polifenol dalam ekstrak tanaman, walaupun terdapat kekurangan karena struktur yang kompleks dan keanekaragamannya. Salah satu metode spektrofotometri UV/VIS banyak digunakan reaksi kolorimetri, karena mudah dilakukan, cepat, biaya rendah, dan dapat dilakukan pada laboratorium biasa. Metode spektrofotometri UV/VIS dengan prinsip kolorimetri membutuhkan standar baku untuk menentukan konsentrasi total dari gugus hidroksil fenolat dalam ekstrak tanaman. Salah satu pereaksi redoks (Pereaksi Folin-Ciocalteu (FC)) bereaksi spesifik dengan polifenol dalam ekstrak tanaman membentuk kompleks berwarna biru yang dapat diukur kadarnya menggunakan spektrofotometri UV/VIS (Blainski *et al.*, 2013).

Artikel review ini bertujuan untuk memberikan informasi dan gambaran mengenai aplikasi senyawa fenolat dari tanaman, serta kelebihan dan kekurangan dari pereaksi Folin-Ciocalteu dalam menentukan kadar fenol total pada beberapa jenis tanaman.

METODE

Bagan dari pencarian sumber literatur terdapat pada Gambar 1. Pencarian dilakukan pada tanggal 29 Maret 2019, menggunakan PubMed dengan kata kunci "Phenolic[All Fields] AND compounds[All Fields] AND Folin-Ciocalteu[All Fields] AND ("indicators and reagents"[Pharmacological Action] OR "indicators and reagents"[MeSH Terms] OR

("indicators"[All Fields] AND "reagents"[All Fields]) OR "indicators and reagents"[All Fields] OR "reagents"[All Fields]) AND ("antioxidants"[Pharmacological Action] OR "antioxidants"[MeSH Terms] OR "antioxidants"[All Fields] OR "antioxidant"[All Fields]) AND ("motor activity"[MeSH Terms] OR ("motor"[All Fields] AND "activity"[All Fields]) OR "motor activity"[All Fields] OR "activity"[All Fields])” terdapat 157 Artikel; ScienceDirect menggunakan kata kunci “Phenolic Compound”, “Antioxidant”, “Folin-Ciocalteu”, terdapat 6000 Artikel; dan Google menggunakan kata kunci “Senyawa Fenolat”, “Kadar Fenol Total”, dan “Pereaksi Folin-Ciocalteu”. Semua sumber pencarian yang telah dilakukan melalui PubMed, ScienceDirect, dan Google, dipilih beberapa artikel dan dibuka total 126 Artikel dari semua sumber pencarian, 46 diantaranya merupakan kriteria inklusi yang digunakan pada review artikel ini.



Gambar 1. Bagan dari pencarian sumber literatur (n = jumlah artikel)

HASIL DAN PEMBAHASAN

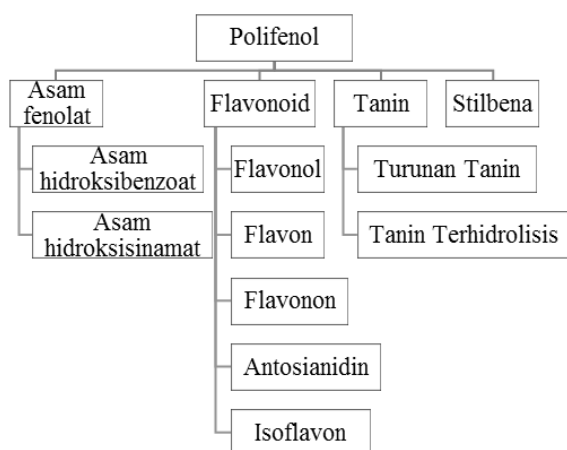
Senyawa Fenolat

Tanaman yang menunjukkan aktivitas antioksidan menunjukkan potensi menurunkan stres oksidatif yang berpengaruh pada manfaat kesehatan. Senyawa fenolat memiliki antioksidan yang lebih kuat secara *in vitro* dan

lebih poten dibandingkan dengan vitamin C dan E, serta karotenoid. Semakin tinggi asupan buah dan sayuran dapat menurunkan risiko penyakit yang diakibatkan stres oksidatif, seperti gangguan kardiovaskular, kanker atau osteoporosis, diduga sebagian karena adanya kandungan fenolat. Senyawa fenolat bekerja sebagai aseptor radikal bebas dan pemutus rantai ikatan. Fenolat mengganggu oksidasi lipid dan molekul lainnya secara cepat dengan mendonorkan atom hidrogen pada senyawa radikal (Dai dan Mumper, 2010). Pencegahan penyakit oleh senyawa fenolat juga dapat melalui mekanisme yang berbeda dari fungsi antioksidan, seperti melalui sinyal selular, ekspresi gen, dan modulasi aktivitas enzimatik (Milenkovic *et al.*, 2011).

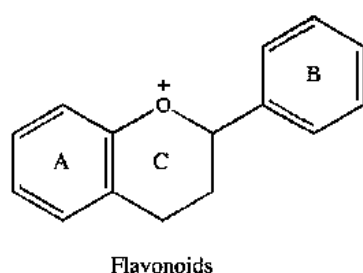
Pada senyawa fenolat terdapat satu atau lebih cincin aromatik dengan satu atau lebih gugus hidroksil. Fenolat tersebar luas pada makanan nabati (buah, sayuran, sereal, zaitun, kacang, cokelat, dan lainnya) dan minuman (teh, kopi, bir, anggur, dan lainnya), dan sebagian berperan pada karakteristik organoleptik dari makanan nabati (Dai dan Mumper, 2010).

Senyawa fenolat seperti asam fenolat dan flavonoid memiliki aktivitas antioksidan, antitrombotik, antiarterogenik, anti-inflamasi, antikarsinogenik, dan antimutagenik (Alpinar *et al.*, 2009). Klasifikasi senyawa fenolat dibagi menjadi dua yaitu, fenol sederhana dan polifenol berdasarkan jumlah gugus fenol dalam molekul (Soto-Vaca *et al.*, 2012). Senyawa fenolat dapat dikategorikan menjadi beberapa kelas seperti yang ditunjukkan pada Gambar 2.



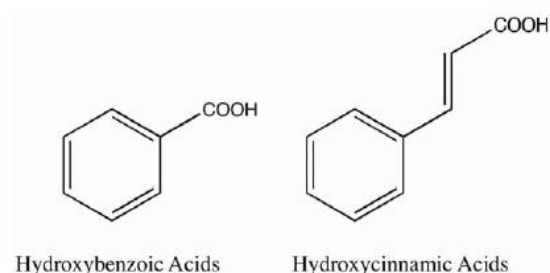
Gambar 2. Klasifikasi senyawa polifenol (Ozcan *et al.*, 2014).

Flavonoid merupakan senyawa fenolat paling umum yang tersebar luas pada jaringan tanaman, yang berperan bersama karotenoid dan klorofil untuk memberikan warna seperti biru, ungu, kuning, oranye, dan merah (Ferreira dan Pinho, 2012). Jalur biosintetis dari flavonoid melalui jalur shikimat diawali dari L-fenil alanin yang kemudian menghasilkan asam sinamat oleh reaksi deaminasi mono-oksidatif yang dikatalisasi oleh fenilalanin amonia liase, yang langsung mengarahkan aliran karbon ke berbagai cabang dari metabolisme fenilpropanoid secara umum (Vogt, 2010). Asam amino aromatik, fenilalanin, dan tirosin merupakan asal dari semua flavonoid dan mempunyai struktur tiga cincin (Routray dan Orsat, 2012). Reaksi hidroksilasi, prenilasi, alkalinisasi, dan glikosilasi berpengaruh pada variasi struktur molekul dasar flavonoid (Gambar 3) (Khoddami *et al.*, 2013).



Gambar 3. Struktur dasar dari flavonoid (Khoddami *et al.*, 2013).

Asam fenolat biasanya berada dalam bentuk ester, glikosida, atau amida, dan jarang dalam bentuk bebasnya. Variasi pada asam fenolat terdapat dalam nomor dan lokasi dari gugus hidroksil pada cincin aromatik (Pereira *et al.*, 2009). Asam fenolat umumnya berada dalam bentuk asam hidroksibenzoat (C6-C1) dan asam hidroksisinamat (C6-C3) yang mungkin terdapat dalam bentuk bebas atau terkonjugasinya (Razzaghi-Asl *et al.*, 2013). Turunan dari asam benzoat adalah galat, protokatekuat, dan asam p-hidroksibenzoat, sedangkan turunan dari asam sinamat adalah kafeat, p-kumarat, dan asam ferulat (Wang *et al.*, 2011). Asam fenolat banyak ditemukan di berbagai makanan, tapi pada beberapa penelitian asam fenolat ditemukan di anggur (Gonçalves *et al.*, 2013), kopi (Marmet *et al.*, 2014; Baeza *et al.*, 2014), kentang (Narváez-Cuenca *et al.*, 2013), jeruk (He *et al.*, 2011), zaitun (Ballus *et al.*, 2014), dan biji-bijian (McCarthy *et al.*, 2012).



Gambar 4. Struktur dasar dari asam fenolat (Khoddami *et al.*, 2013).

Analisis Senyawa Fenolat

Pengujian kadar fenolat total dilakukan untuk mengukur kadar fenolat total dalam sampel. Senyawa fenolat yang terkandung dalam tanaman memiliki sifat redoks, sehingga memungkinkan bertindak sebagai antioksidan (Johari dan Heng Yen Khong, 2019). Berdasarkan penelitian Piluzza dan Bullitta

(2011) terhadap 24 spesies tanaman, ditemukan adanya korelasi yang signifikan bahwa senyawa fenolat berkontribusi signifikan terhadap total kapasitas antioksidan dari beberapa spesies tanaman yang diteliti.

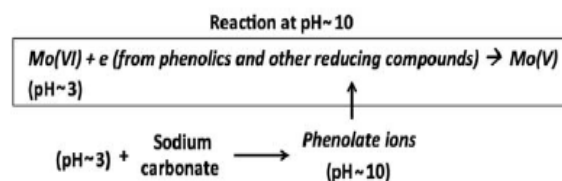
Beberapa metode telah digunakan untuk penentuan kadar fenolat pada tanaman. Biasanya, kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) dan analisis spektrofotometri. Lebih spesifik lagi metode Folin-Ciocalteu (F-C) telah banyak digunakan untuk menentukan kadar fenol total. Awalnya metode F-C dikembangkan untuk penentuan kolorimetri tirosin, asam amino non-esensial fenolik. Setelah itu, metode ini telah digunakan untuk penentuan beberapa senyawa termasuk fenolat tanaman, obat-obatan, vitamin C dan konstituen lainnya dalam berbagai sampel mulai dari ekstrak tanaman hingga produk urin dan madu (Attard, 2013).

Uji penentuan kadar fenolat total dengan menggunakan pereaksi Folin-Ciocalteu (F-C) (molibdotungstosulfat heteropolianion $3\text{H}_2\text{O}-\text{P}_2\text{O}_5-13\text{WO}_3-5\text{MoO}_3-10\text{H}_2\text{O}$) bereaksi dengan senyawa fenolat menghasilkan warna biru $[(\text{PMoW}_{11}\text{O}_4)^{4-}]$ yang dapat diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 760 nm. Warna biru pada larutan disebabkan karena logam molibdenum (Mo(VI)) pada senyawa kompleks pereaksi tereduksi menjadi Mo(V) dengan adanya donor elektron oleh antioksidan. Sebagai larutan baku standar biasa digunakan asam galat atau asam kafeat. Kadar fenolat total dihitung menggunakan asam galat sebagai baku standar, sehingga hasilnya menggunakan satuan mg ekuivalen asam galat per g ekstrak (Berker *et al.*, 2013; Vázquez *et al.*, 2015). Asam galat lebih banyak digunakan sebagai standar fenol karena

banyak terdapat dalam matriks makanan (Pereira *et al.*, 2018).

Kadar dari senyawa pereduksi, seperti polifenol, sulfur dioksida, asam organik (asam askorbat), gula (fruktosa dan sukrosa), dan beberapa asam amino, berbanding lurus dengan intensitas warna yang dihasilkan. Kompleks logam ini diabsorpsi pada Panjang gelombang antara 620 nm dan 760 nm, dengan panjang gelombang maksimum pada 725 nm (Margraf *et al.*, 2015).

Dibandingkan dengan metode pengujian kapasitas antioksidan total lainnya, metode F-C mempunyai beberapa kelebihan seperti sederhana, cepat, dan akurat, serta absorpsi dari kromofor berada di panjang gelombang yang tinggi sehingga dapat mengurangi gangguan dari matriks sampel (Sánchez-Rangel *et al.*, 2013).



Gambar 5. Reaksi pereaksi F-C dengan senyawa fenol (Sánchez-Rangel *et al.*, 2013).

Pembuatan Pereaksi Folin-Ciocalteu

Pereaksi F-C dibuat dengan melarutkan 100 g natrium tungstat ($\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) dan 25 g natrium molibdat ($\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) dalam 700 mL air suling. Larutan tersebut selanjutnya diasamkan dengan 50 mL HCl pekat dan 50 mL asam fosfat 85%. Larutan yang telah diasamkan dididihkan selama 10 jam, lalu didinginkan, dan ditambahkan 150 g $\text{Li}_2\text{SO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$. Larutan pereaksi F-C berwarna kuning terang (Sánchez-Rangel *et al.*, 2013). Garam litium dalam

pereaksi F-C ini berfungsi mencegah kekeruhan. Umumnya, reaksi memberikan data yang akurat dan spesifik untuk beberapa senyawa fenolat (Blainski *et al.*, 2013).

Pereaksi F-C sangat stabil jika terlindung dari reduktor dan cahaya ketika akan dilarutkan. Mekanisme dasar metode F-C mengukur polifenol dalam bahan alam adalah reaksi oksidasi/reduksi dengan grup fenolat akan teroksidasi dan ion logam akan tereduksi (Agbor *et al.*, 2014).

Selektivitas Pereaksi Folin-Ciocalteu

Selain dengan fenol, larutan F-C juga bereaksi dengan senyawa antioksidan lainnya, misalnya protein, karbohidrat, asam amino, nukleotida, tiol, asam lemak tak jenuh, vitamin, amina, aldehyd, keton, hidrazin, hidroksilamin, guanida, amin tersier, amin aromatik, pirol, dan indol (Everette *et al.*, 2010).

Reaksi kimia yang kurang spesifik dan substrasi oksidasi lainnya yang terdapat dalam ekstrak dapat menghambat pengujian sehingga meningkatkan kadar fenolat total menjadi pertimbangan utaman menggunakan metode dengan pereaksi F-C. Hasil dari oksidan lain yang berkompetisi dengan pereaksi F-C atau oksidasi dari udara setelah sampel dibuat dalam keadaan basa dapat menyebabkan penghambatan dalam pengukuran. Oleh karena alasan ini, pereaksi F-C ditambahkan sebelum sampel dibasakan. Ketika senyawa lain yang mempunyai struktur mirip dengan fenol dapat terjadi efek aditif, begitu pula dengan adanya amin aromatik, tingginya kadar gula atau asam askorbat dalam ekstrak. Asam askorbat bereaksi cepat dengan pereaksi F-C dan harus dipertimbangkan pengukuran sebelum ditambahkan basa atau melakukan pengujian

spesifik lainnya lalu hasilnya dikurangi dengan hasil dengan pengujian pereaksi F-C. Pada anggur, sulfit dan sulfur dioksida juga bereaksi dengan pereaksi F-C, dimana SO₂ dapat menyebabkan efek aditif. Namun walaupun kurang selektif terhadap senyawa fenolat, pereaksi F-C ini sederhana dan reproduibel untuk mempelajari antioksidan fenolat (Everette *et al.*, 2010).

Tabel 1. Kadar Fenol Total pada Tanaman menggunakan Pereaksi Folin-Ciocalteu

Tanaman	Pelarut	Standar Baku	Panjang Gelombang Analisis	Kadar Fenol Total	Referensi
Ekstrak daun Timi (<i>Thymus vulgaris</i> L.) Ekstrak daun Sage (<i>Salvia officinalis</i> L.) Ekstrak daun Marjoram (<i>Origanum majorana</i> L.)	Metanol, Etanol, Dietil Eter, dan Heksan	Asam Galat	760 nm	Ekstrak metanol, ekstrak etanol, ekstrak dietil eter, dan ekstrak heksan daun timi berturut-turut kadarnya 8,10±2,00; 7,30±1,47; 6,15±1,86; 4,75±1,00 mg ekivalen asam galat/g ekstrak kering Ekstrak metanol, ekstrak etanol, ekstrak dietil eter, dan ekstrak heksan daun sage berturut-turut kadarnya 5,95±2,65; 5,80±1,00; 4,70±2,00; 4,25±1,00 mg ekivalen asam galat/g ekstrak kering Ekstrak metanol, ekstrak etanol, ekstrak dietil eter, dan ekstrak heksan marjoram berturut-turut kadarnya 5,20±2,65; 4,65±1,00; 4,55±1,0; 3,90±1,00 mg ekivalen asam galat/g ekstrak kering	Roby <i>et al.</i> , 2013
Ekstrak akar <i>Curcuma amada</i> , <i>Curcuma caesia</i> , dan <i>Curcuma longa</i>	Metanol	Asam Galat	760 nm	- <i>C. amada</i> = 92,30 ± 0,05 mg/g GAE (<i>Gallic Acid Equivalent</i>) - <i>C. caesia</i> = 134,47 ± 0,06 mg/g GAE - <i>C. longa</i> = 260 ± 0,25 mg/g GAE	Sahu dan Jyoti, 2013
Ekstrak biji <i>Satureja hortensis</i> L.	Metanol	Asam Galat	765 nm	24,52 mg GAE/g	Alizadeh <i>et al.</i> , 2010
Ekstrak daun <i>Hibiscus sabdariffa</i>	Metanol	Asam Galat	752 nm	22,92 mg GAE/g	Zhen <i>et al.</i> , 2015
Ekstrak <i>Torilis leptophylla</i> L.	Metanol	Asam Galat	750 nm	121,9±3,1 mg GAE/g ekstrak kering	Saeed <i>et al.</i> , 2012
Ekstrak alga cokelat <i>Stypocaulon scoparium</i>	Hidroalkohol (Air-Metanol), Air, Metanol, Etanol,	Asam Galat	765 nm	- Ekstrak hidroalkohol alga cokelat <i>S. scoparium</i> = 292,3±5,14 mg GAE/100 g serbuk kering alga - Ekstrak air alga cokelat <i>S. scoparium</i> = 328,7±2,87 mg GAE/100 g serbuk kering alga - Ekstrak metanol alga cokelat <i>S. scoparium</i> = 255,2±1,59 mg GAE/100 g serbuk kering alga	López <i>et al.</i> , 2011

- Ekstrak etanol alga cokelat <i>S. scoparium</i> = 123,2±3,36 mg GAE/100 g serbuk kering alga				
Ekstrak <i>Ulva clathrata</i> , <i>Ulva linza</i> , <i>Ulva flexuosa</i> , dan <i>Ulva intestinalis</i>	Metanol	Asam Galat	600 nm	- Ekstrak metanol <i>U. clathrate</i> = 5,080±0,650 mg GAE/g ekstrak - Ekstrak metanol <i>U. linza</i> = 1,996±0,298 mg GAE/g ekstrak - Ekstrak metanol <i>U. flexuosa</i> = 2,674±0,221 mg GAE/g ekstrak - Ekstrak metanol <i>U. intestinalis</i> dari lokasi Northern Ouli = 1,982±0,308 mg GAE/g ekstrak Ekstrak metanol <i>U. intestinalis</i> dari lokasi Dayyer = 1,982±0,308 mg GAE/g ekstrak
Ekstrak akar <i>Arisaema jacquemontii</i>	Metanol	Asam Galat	650 nm	- 45,17±1,70 mg GAE/g ekstrak kering
Ekstrak herba <i>Limnophila aromatica</i>	Metanol, Etanol, Aseton, Air	Asam Galat	760 nm	- Ekstrak air <i>L. aromatica</i> = 6,25±0,24 mg GAE/g - Ekstrak metanol <i>L. aromatica</i> = 31,50±1,60 mg GAE/g - Ekstrak etanol <i>L. aromatica</i> = 40,50±0,88 mg GAE/g - Ekstrak aseton <i>L. aromatica</i> = 40,30±0,20 mg GAE/g
Ekstrak bunga dan daun <i>Clitoria ternatea</i> L	Air, Metanol	Asam Galat	725 nm	- Ekstrak air bunga <i>C. ternatea</i> = 20,7±0,1 mg GAE/g - Ekstrak air daun <i>C. ternatea</i> = 18,5±0,4 mg GAE/g - Ekstrak metanol bunga <i>C. ternatea</i> = 61,7±0,2 mg GAE/g - Ekstrak metanol daun <i>C. ternatea</i> = 64,8±0,1 mg GAE/g

Farasat *et al.*,
2014

Baba dan
Shahid, 2015

Do *et al.*,
2013

Rabeta dan
An Nabil,
2013

KESIMPULAN

Artikel review ini membahas tentang aplikasi senyawa fenolat dari tanaman yang berperan penting terhadap aktivitas antioksidan, antitrombotik, antiarterogenik, anti-inflamasi, antikarsinogenik, dan antimutagenik, serta analisis senyawa fenolat dalam tanaman menggunakan metode kolorimetri dengan pereaksi Folin-Ciocalteu. Reaksi tersebut menghasilkan senyawa kompleks berwarna biru, $[(\text{PMoW}_{11}\text{O}_4)^{4-}]$, yang dapat diukur pada 760 nm. Kelebihan pereaksi Folin-Ciocalteu ini adalah sederhana dan cepat, serta absorpsi dari kromofor berada di panjang gelombang tinggi sehingga dapat mengurangi gangguan dari matriks sampel. Namun, pereaksi Folin-Ciocalteu ini kurang selektif karena dapat bereaksi dengan zat pereduksi lainnya, seperti asam askorbat, gula, dan amin aromatik, yang mungkin terdapat dalam ekstrak tanaman, sehingga mempertinggi kadar fenolat dari yang sesungguhnya.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis berterimakasih kepada Rizky Abdullah selaku dosen mata kuliah Metodologi Penelitian yang telah memberikan pengarahan sehingga bahasan ini dapat diselesaikan dengan baik.

DAFTAR PUSTAKA

- Agbor, G. A., J. A. Vinson, dan P. E. Donnelly. 2014. Folin-Ciocalteu Reagent for Polyphenolic Assay. *International Journal of Food Science, Nutrition and Dietetics (IJFS)*. 3(801): 1-10. DOI: 10.19070/2326-3350-1400028.
- Ahmed, S. I., M. Q. Hayat, M. Tahir, dan Q. Mansoor. 2016. Pharmacologically active flavonoids from the anticancer, antioxidant and antimicrobial extracts of *Cassia angustifolia* Vahl. *BMC complementary and alternative medicine*. 16(1): 1-9. doi:10.1186/s12906-016-1443-z
- Alizadeh, A., M. Khoshkhui, K. Javidnia, O. Firuzi. 2010. Effects of fertilizer on yield, essential oil composition, total phenolic content and antioxidant activity in *Satureja hortensis* L. (Lamiaceae) cultivated in Iran. *Journal of Medicinal Plants Research*. 4(1): 33-40. DOI: 10.5897/JMPR09.361
- Alpinar, K., M. Ozyurek, U. Kolak, dan K. Guclu. 2009. Antioxidant Capacities of some food plants wildy grown in ayvalik of turkey. *Food Science and Technology Research*. 15(1):59-64. doi: 10.3136/fstr.15.59.
- Attard, E. 2013. A rapid microtitre plate Folin-Ciocalteu method for the assessment of polyphenols. *Central European Journal of Biology*. 8(1): 48-53. DOI: 10.2478/s11535-012-0107-3
- Baba, S. A. dan S. A. Malik. 2015. Determination of total phenolic and flavonoid content, antimicrobial and antioxidant activity of a root extract of *Arisaema jacquemontii* Blume. *Journal of Taibah University for Science*. 9(4): 449-454. doi:10.1016/j.jtusci.2014.11.001
- Baeza, G., M. Amigo-Benavent, B. Sarriá, dan L. Goya. 2014. Green coffee hydroxycinnamic acids but not caffeine protect human HepG2 cells against oxidative stress. *Food Research International*. 62:1038-1046.
- Ballus C. A., A. D. Meinhart, F. Campos, dan H. Godoy. 2014. A quantitative study on the phenolic compound, tocopherol and fatty acid contents of monovarietal virgin olive oils produced in the southeast region of Brazil. *Food Research International*. 62: 74-83
- Berker, K. I., F. A. O. Olgun, D. Ozyurt, B. Demirata, dan R. Apak. 2013. Modified Folin-Ciocalteu Antioxidant Capacity Assay for Measuring Lipophilic Antioxidants. *Journal Agriculture Food Chemistry*. 61: 4783-4791. DOI: dx.doi.org/10.1021/jf400249k
- Blainski, A., G. C. Lopes, dan J. C. Palazzo de Mello. 2013. Application and Analysis of the Folin-Ciocalteu Method for the

- Determination of the Total Phenolic Content from *Limonium Brasiliense* L. *Molecules*. 18: 6852-6865. doi:10.3390/molecules18066852
- Dai J., dan R. J. Mumper. 2010. Plant Phenolics: Extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules*. 15: 7313-7352. doi: 10.3390/molecules15107313
- Do, Q. D., A. E. Angkawijaya, P. L. Tran-Nguyen, dan L. H. Huynh. 2013. Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoids content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica*. *Journal of Food and Drug Analysis*. 22(3): 296–302. doi: 10.1016/j.jfda.2013.11.001
- Everette, J. D., Q. M. Bryant, A. M. Green, Y. A. Abbey, G. W. Wangila, dan R. B. Walker. 2010. Thorough Study of Reactivity of Various Compound Classes toward the Folin-Ciocalteu Reagent. *Journal Agriculture Food Chemistry*. 58(14): 8139–8144. DOI:10.1021/jf1005935
- Farasat, M., R. A. Khavari-Nejada, S. M. B. Nabavib, dan F. Namjooyanc. 2014. Antioxidant Activity, Total Phenolics and Flavonoid Contents of some Edible Green Seaweeds from Northern Coasts of the Persian Gulf. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*. 13(1): 163-170.
- Fawole, O. A., N. P. Makunga, dan U. L. Opara. 2012. Antibacterial, antioxidant and tyrosinase inhibition activities of pomegranate fruit peel methanolic extract. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 12: 200. doi:10.1186/1472-6882-12-200
- Ferreira, O., dan S.P. Pinho. 2012. Solubility of flavonoids in pure solvents. *Industrial and Engineering Chemistry Research*. 51(18): 6586–6590.
- Gonçalves, J., S. C. Castilho, dan J. Câmara 2013. An attractive, sensitive and high-throughput strategy based on microextraction by packed sorbent followed by UHPLC-PDA analysis for quantification of hydroxybenzoic and hydroxycinnamic acids in wines. *Microchemical Journal*. 106: 129-138.
- He, D. S. Y., Y. Wu, G. Liu, dan B. Chen. 2011. Simultaneous determination of flavanones, hydroxycinnamic acids and alkaloids in citrus fruits by HPLC-DAD–ESI/MS. *Food Chemistry*. 127:880-885.
- Johari, M. A., dan H. Y. Khong. 2019. Total Phenolic Content and Antioxidant and Antibacterial Activities of *Pereskia bleo*. *Hindawi: Advances in Pharmacological Sciences*. 2019(2019): 1-4. doi:10.1155/2019/7428593
- Khoddami, A., M. A. Wilkes, dan T. H. Roberts. 2013. Techniques for Analysis of Plant Phenolic Compounds. *Molecules*. 18(2): 2328-2375. doi: 10.3390/molecules18022328
- Kumar G. P., dan S. B. Singh. 2010. Antibacterial and antioxidant activities of ethanol extracts from trans himalayan medicinal plants. *Pharmacognosy Journal*. 2(17):66-69.
- López, A. R. M., A. Rivero, dan M. Suárez de Tangil 2011. The effects of solvents on the phenolic contents and antioxidant activity of *Stypocaulon scoparium* algae extracts. *Food Chemistry*. 125(3): 1104–1109. doi:10.1016/j.foodchem.2010.09.101
- Marmet, C., L. Actis-Goretta, M. Renouf, dan F. Giuffrida. 2014. Quantification of phenolic acids and their methylates, glucuronides, sulfates and lactones metabolites in human plasma by LC–MS/MS after oral ingestion of soluble coffee. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 88: 617-625.
- Margraf, T., A. R. Karnopp, N. D. Rosso, dan D. Granato. 2015. Comparison between Folin-Ciocalteu and Prussian Blue Assays to Estimate the Total Phenolic Content of Juices and Teas Using 96-Well Microplates. *Journal of Food Science*. 80(11): 2397-2403. doi:10.1111/1750-3841.13077
- McCarthy, A. L., Y. C. O’Callaghan, A. Connolly, C. O. Piggott, R. J. FitzGerald, dan M. N. O’Brien. 2012. Phenolic extracts of brewers’ spent grain (BSG) as functional ingredients–Assessment of their DNA protective effect against oxidant-induced DNA

- singles strand breaks in U937 cells. *Food Chemistry*. 134: 641-646.
- Milenkovic, D., C. Deval, C. Dubray, A. Mazur, dan C. Morand. 2011. Hesperidin displays relevant role in the nutrigenomic effect of orange juice on blood leukocytes in human volunteers: a randomized controlled cross-over study. *PloS one*. 6(11): 1-9. doi:10.1371/journal.pone.0026669
- Narváez-Cuenca, C., J. P. Vincken, C. Zheng, dan H. Gruppen. 2013. Diversity of (dihydro) hydroxycinnamic acid conjugates in Colombian potato tubers. *Food Chemistry*. 139:1087-1097.
- Ondo, J. P., L-C. Obame, T. A. Barhé, G. N. Akoue, E. N. Emvo, dan J. Lebib. 2013. Phytochemical screening, total phenolic content and antiradical activity of *Asplenium africanum* (Aspleniaceae) and fruit of *Megaphrynium macrostachyum* (Marantaceae). *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 3(8): 092-096. DOI: 10.7324/JAPS.2013.3816
- Ozcan, T., A. Akpinar-Bayazit, L. Yilmaz-Ersan, dan B. Delikanli. 2014. Phenolics in Human Health. *International Journal of Chemical Engineering and Applications*. 5(5): 393-396. DOI: 10.7763/IJCEA.2014.V5.416.
- Pereira, D. M., P. Valentão, J. A. Pereira, P. B. Andrade. 2009. Phenolics: From chemistry to biology. *Molecules*. 14(6): 2202–2211.
- Pereira, G. A., H. S. Arruda, dan G. M. Pastore. 2018. Modification and validation of Folin-Ciocalteu assay for faster and safer analysis of total phenolic content in food samples. *Brazilian Journal of Food Research*. 9(1): 125-140. DOI: 10.3895/rebrapa.v9n1.6062
- Piluzza, G., dan S. Bullitta. 2011. Correlations between phenolic content and antioxidant properties in twenty-four plant species of traditional ethnoveterinary use in the Mediterranean area. *Pharmaceutical Biology*. 49(3): 240–247. doi: 10.3109/13880209.2010.501083
- Rabeta, M. S., dan Z. A. Nabil. 2013. Total phenolic compounds and scavenging activity in *Clitoria ternatea* and *Vitex negundo* Linn. *International Food Research Journal*. 20(1): 495-500.
- Razzaghi-As, N., J. Garrido, H. Khazraei, F. Borges, dan O. Firuzi. 2013. Antioxidant Properties of Hydroxycinnamic Acids: Structure-Activity Relationships. *Current Medicinal Chemistry*. 20: 123-135.
- Roby, M. H. H., M. A. Sarhan, K. A. H. Selim, dan K. I. Khalel. 2013. Evaluation of antioxidant activity, total phenols and phenolic compounds in thyme (*Thymus vulgaris* L.), sage (*Salvia officinalis* L.), and marjoram (*Origanum majorana* L.) extracts. *Industrial Crops and Products*. 43: 827–831. doi: 10.1016/j.indcrop.2012.08.029
- Routray, W., dan V. Orsat. 2012. Microwave-assisted extraction of flavonoids. *Food Bioprocess. Technol*. 5(2): 409–424.
- Sadino, A., I. Sahidin, dan W. Wahyuni. 2016. Antioxidant Activity of Ethanol Extract of *Polygonum pulchrum* Blume. *Pharmacology and Clinical Pharmacy Research*. 1(2): 48-54. doi: 10.15416/pcpr.2016.1.2.48
- Saeed, N., M. R. Khan, dan M. Shabbir. 2012. Antioxidant activity, total phenolic and total flavonoid contents of whole plant extracts *Torilis leptophylla* L. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 12(1): 1-12.
- Sahu, R., dan J. Saxena. 2013. Screening of Total Phenolic and Flavonoid Content in Conventional and Non-Conventional Species of Curcuma. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 2(1): 176-179.
- Sánchez-Rangel, J. C., J. Benavides, J. B. Heredia, L. Cisneros-Zevallos, dan D. A. Jacobo-Velázquez. 2013. The Folin–Ciocalteu assay revisited: improvement of its specificity for total phenolic content determination. *Analytical Methods*. 5: 5990–5999. DOI: 10.1039/c3ay41125g
- Som, A. M., N. Ahmat, A. Hamid, dan N. Azizuddin. 2019. A comparative study on foliage and peels of *Hylocereus undatus* (white dragon fruit) regarding their antioxidant activity and phenolic content. *Heliyon*. 5(2): 1244. doi: 10.1016/j.heliyon.2019.e01244

- Soto-Vaca, A., A. Gutierrez, J. N. Losso, Z. Xu, dan J. W. Finley. 2012. Evolution of Phenolic Compounds from Color and Flavor Problems to Health Benefits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 60(27): 6658–6677. doi: 10.1021/jf300861c
- Vázquez, C. V., M. G. V. Rojas, C. A. Ramírez, J. L. Chávez-Servín, T. García-Gasca, dan F. Martínez. 2015. Total phenolic compounds in milk from different species. Design of an extraction technique for quantification using the Folin–Ciocalteu method. *Food Chemistry*. 176: 480–486. doi: 10.1016/j.foodchem.2014.12.050
- Vogt, T. 2010. Phenylpropanoid Biosynthesis. *Molecular Plant*. 3(1): 1–20. doi:10.1093/mp/ssp106
- Wang, B. N., H. F. Liu, J. B. Zheng, M. T. Fan, dan W. Cao. 2011. Distribution of Phenolic Acids in Different Tissues of Jujube and Their Antioxidant Activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 59(4): 1288–1292. doi: 10.1021/jf103982q
- Zhen, J. V. T., Y. Guo, Y. Qi, C. K. Pan, C. T. Ho, J. E. Simon, Q. Wu. 2015. Phytochemistry, antioxidant capacity, total phenolic content and anti-inflammatory activity of *Hibiscus sabdariffa* leaves. *Food Chemistry*. 190: 673–680. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.06.006>