

Penetapan Kadar Total Fenol Ekstrak Propolis yang Menggunakan Pelarut Eutektik Dalam Kombinasi Asam Laktat, Glukosa, dan Air.

Determination of Total Phenolic Content in Propolis Extract Using Deep Eutectic Solvent (DES) Combination of Lactic Acid, Glucose, and Water.

Taufiq Dalming¹⁾, Abd. Karim²⁾, Gusniati Bulawan³⁾

¹²³ Program Studi DIII Farmasi Institut Ilmu Kesehatan Pelamonia Makassar

E-mail: ¹⁾ taufiqdalming@iikpelamonia.ac.id, ²⁾ arimjie@gmail.com, ³⁾ gusniatibulawan@gmail.com

ABSTRACT

Propolis is a resinous substance collected by bees to construct and protect their hives. This resin-based material has been used for centuries as a traditional medicine to heal wounds. The aim of this research is to determine the presence of phenolic compounds in propolis extract using Deep Eutectic Solvent (DES) as the solvent and to determine the total phenolic content in the propolis extract using a combination of DES composed of lactic acid, glucose, and water. The study was conducted experimentally by extracting propolis and performing qualitative analysis using the Folin-Ciocalteu reagent, followed by quantitative analysis using UV-Vis spectrophotometry. The research results showed positive indications of phenolic compounds, indicated by a color change to blue, with a spectrophotometric UV-Vis measurement revealing a phenol content of 0.7180%.

Keywords: Propolis, Folin-Ciocalteu, Phenol, UV-Vis spectrophotometry

ABSTRAK

Propolis adalah zat resin yang dikumpulkan oleh lebah untuk membangun dan melindungi sarang. Zat berbasis resin ini telah lama digunakan sebagai obat tradisional untuk menyembuhkan luka selama berabad-abad. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengevaluasi kandungan senyawa fenol dalam ekstrak propolis yang dihasilkan menggunakan pelarut eutektik dalam, serta untuk menentukan kadar total fenolik dalam ekstrak propolis menggunakan kombinasi pelarut eutektik dalam yang terdiri dari asam laktat, glukosa, dan air. Penelitian ini dilakukan secara eksperimental dengan melakukan ekstraksi propolis. Uji kualitatif dilakukan menggunakan reagen Folin-Ciocalteu, sementara uji kuantitatif menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Hasil penelitian menunjukkan adanya senyawa fenol yang memberikan perubahan warna menjadi biru, dan kadar fenol dalam ekstrak propolis diukur sebesar 0,7180% menggunakan spektrofotometri UV-Vis.

Kata kunci : Propolis, Fenol, Folin-Ciocalteu, spektrofotometri UV-Vis

PENDAHULUAN (Huruf Times New Roman 10 point, Bold, spasi 1)

Propolis adalah produk alami yang dihasilkan oleh lebah dari resin tumbuhan dan air liur lebah (Cui et al., 2022; Sulaeman et al., 2019). Propolis telah lama digunakan dalam berbagai tradisi pengobatan alternatif karena kandungan senyawa bioaktifnya yang berpotensi memberikan efek antioksidan, antibakteri, antiviral, dan antiinflamasi (Damodaran, 2021). Salah satu kelompok senyawa yang berperan penting dalam aktivitas biologis propolis adalah senyawa fenol (Zahra et al., 2021).

Proses ekstraksi senyawa fenol dari propolis merupakan tahap kritis dalam mendapatkan ekstrak propolis yang berkualitas tinggi dan kaya senyawa bioaktif (Hakim & Saputri, 2020). Salah satu metode ekstraksi yang menjanjikan adalah menggunakan pelarut eutektik dalam (PED). Pelarut eutektik dalam adalah campuran dari dua atau lebih senyawa yang membentuk titik eutektik dengan sifat pelarut yang unik, seperti kelarutan yang tinggi dan daya larut yang baik untuk senyawa-senyawa tertentu (El Achkar et al., 2021; Hansen et al., 2020; Smith et al., 2014).

Kombinasi asam laktat, glukosa, dan air telah diidentifikasi sebagai PED yang potensial untuk ekstraksi senyawa fenol (Paradiso et al., 2016). Asam laktat dan glukosa, yang merupakan senyawa-senyawa alami, dapat berperan sebagai pelarut utama, sementara air berfungsi sebagai modulator kelarutan dan daya larut PED (Suresh et al., 2022; Thakur et al., 2022).

Meskipun sudah ada penelitian tentang ekstraksi senyawa fenol dari propolis menggunakan pelarut konvensional, penggunaan PED sebagai pelarut potensial masih belum banyak dijelajahi. Oleh karena itu, penelitian ini akan mencoba untuk mengeksplorasi potensi pelarut eutektik dalam (PED) berbasis kombinasi asam laktat, glukosa, dan air untuk ekstraksi senyawa fenol dari propolis.

Tujuan penelitian ini adalah untuk menentukan kadar total fenol dalam ekstrak propolis yang dihasilkan menggunakan pelarut eutektik dalam (PED) dengan kombinasi asam laktat, glukosa, dan air. Metode ekstraksi dengan PED diharapkan dapat menghasilkan ekstrak propolis yang mengandung kadar fenol yang lebih tinggi dibandingkan dengan metode ekstraksi konvensional.

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi dalam pengembangan metode ekstraksi propolis yang lebih efisien dan efektif untuk mendapatkan ekstrak yang kaya senyawa fenol. Hasil penelitian ini juga berpotensi memiliki implikasi penting dalam penggunaan propolis sebagai bahan aktif dalam berbagai aplikasi industri dan kesehatan, terutama dalam formulasi produk-produk berbasis propolis dengan potensi aktivitas biologis yang lebih tinggi.

METODE

Penelitian eksperimental, yang dilaksanakan di Laboratorium Kimia Institut Ilmu Kesehatan Pelamonia Makassar.

Alat Dan Bahan

Alat yang digunakan yaitu tabung reaksi, rak tabung, gelas kimia, spektrofotometri UV-Vis, pipet tetes, labu ukur, dan vortex. Dan bahan yang digunakan yaitu asam laktat, aquadest, glukosa, propolis curah, Folin-Ciocalteu, asam galat, dan Na_2CO_3 .

Prosedur penelitian

- a. Persiapan sampel
Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah propolis curah yang diperoleh dari salah satu toko online
- b. Persiapan DES
Dicampurkan di dalam tabung reaksi asam laktat, glukosa, dan aquadest (rasio 6:1:6) (Choi et al., 2011). Kemudian divortex hingga diperoleh larutan yang homogen (Paradiso et al., 2016).
- c. Ekstraksi sampel
Dimasukkan propolis curah sebanyak 5 mL ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan pelarut eutektik dalam (asam laktat:glukosa:aquadest) sebanyak 5 mL. Setelah itu divortex hingga didapatkan hasil yang homogen.
- d. Analisis kualitatif
 1. Uji organoleptik
Dilakukan pengamatan secara visual pada ekstrak propolis menggunakan pelarut eutektik dalam (DES) yang meliputi warna, bau, dan bentuk.
 2. Metoden Folin-Ciocalteu
Sebanyak 0,5 mL ekstrak propolis, dan larutan pembanding asam galat ditambahkan dengan pereaksi Folin-Ciocalteu yang telah diencerkan dengan aquadest (1:10 v/v) sebanyak 2,5 mL kedalam tabung reaksi. Setelah itu di diamkan selama 10 menit lalu di tambahkan natrium karbonat 1 M sebanyak 7,5 mL. lalu di amati perubahan warna yang terjadi (Rollando & Monica, 2018).

3. Penentuan spektrum ekstrak
4. Mengukur larutan ekstrak propolis yang telah di encerkan dibandingkan dengan larutan asam galat.
- e. Analisis kuantitatif
 1. Pembuatan larutan induk asam galat (100 ppm)
Ditimbang 10 mg asam galat kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL. Lalu dicukupkan dengan aquadest hingga tanda batas. Dan diperoleh larutan induk 100 ppm.
 2. Penentuan panjang gelombang maksimum
Diambil larutan induk asam galat 100 ppm sebanyak 1 mL kemudian masukkan kedalam labu ukur 10 mL. Lalu tambahkan 1 ml reagen folin ciocalteu kemudian dikocok lalu didiamkan selama 5 menit. Tambahkan larutan Na_2CO_3 35% sebanyak 4 mL kemudian kocok hingga homogen lalu diamkan selama 5 menit. Kemudian cukupkan dengan aquadest hingga tanda batas.
 3. Pembuatann kurva baku
Diambil masing-masing 2 mL, 4 mL, 6 mL, 8 mL dan 10 mL dari larutan asam galat 100 ppm kemudian masukkan kedalam labu ukur 10 mL. Dari labu ukur kemudian dimasukkan kedalam tabung reaksi, lalu tambahkan 1 ml reagen Folin-Ciocalteu kemudian dikocok lalu didiamkan selama 5 menit. Tambahkan larutan Na_2CO_3 35% sebanyak 4 mL kemudian kocok hingga homogen lalu diamkan selama 5 menit. Kemudian cukupkan dengan aquadest hingga tanda batas. Sehingga diperoleh seri pengenceran 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm. Lalu diukur absorbansi panjang gelombang maksimum asam galat menggunakan spektrofotometri UV-Vis.
 4. Penetapan kadar fenol pada ekstrak
Ditimbang 0,5 gram ekstrak propolis kemudian masukkan kedalam labu ukur 100 mL, dan dicukupkan dengan aquadest hingga tanda batas. Kemudian dipipet 1 mL masukkan ke dalam labu ukur 10 mL lalu tambahkan 1 mL reagen Folin-Ciocalteu kemudian dikocok lalu didiamkan selama 5 menit. Tambahkan larutan Na_2CO_3 35% sebanyak 4 mL kemudian kocok hingga homogen lalu diamkan selama 5 menit. Kemudian cukupkan dengan aquadest hingga tanda batas. Lalu amati absorbansinya pada panjang gelombang larutan pembanding asam galat. Dihitung dengan menggunakan kurva baku yang telah didapat sehingga diketahui konsentrasi dari sampel yang diukur. Lalu kadar fenol dihitung dalam % b/b terhadap pembanding asam galat.

Pengolahan dan analisis data

Pada penentuan kadar fenol dilakukan analisis data terlebih dahulu dengan metode kurva standar, dengan rumus:

$$y = ax + b$$

Dimana:

- y = serapan
- a = konstanta
- b = slope/kemiringan
- x = konsentrasi

HASIL

Tabel 1 Data pengujian kualitatif kadar fenol pada ekstrak propolis

Uji Organoleptik	Hasil	
	Ekstrak propolis	Asam galat
Warna	Coklat	Putih
Bau	Tidak berbau	Tidak berbau
Bentuk	Kental	serbuk
Spektrum UV-Vis	$\lambda_{\text{max}} = 264,50$	$\lambda_{\text{max}} = 265,50$
Uji Folin-Ciocalteu	Larutan berwarna biru kehitaman	Larutan berwarna biru

Tabel 2 Data pengujian kuantitatif kadar fenol pada ekstrak propolis

Kode sampel	Kadar fenol
Ekstrak propolis	0,1436 %

PEMBAHASAN

Propolis telah menjadi populer sebagai makanan dan pengobatan alternatif. Bab ini bertujuan untuk menyajikan pembaruan tentang beberapa sifat farmakologi dan biologis propolis. Aktivitas biologis propolis terutama terkait dengan senyawa fenolik seperti flavonoid dan turunannya dari asam hidroksisinamat (Sulaeman et al., 2022). Teknik ekstraksi sangat mempengaruhi pemulihan optimal senyawa fenolik dari matriks. Keterbatasan metode konvensional telah mendorong eksplorasi teknologi ekstraksi hijau yang inovatif yang aman, efektif, dan ekonomis (Verma & Himshweta, 2023).

Ekstraksi propolis dilakukan dengan menggunakan pelarut eutektik dalam (DES). Pelarut eutektik dalam (DES) merupakan komposisi dari dua atau lebih komponen padat pada suhu yang tepat akan mengalami perubahan fase menjadi cair. Berdasarkan metode yang dilakukan oleh (Paradiso et al., 2016), ekstraksi dilakukan secara sederhana dengan mencampurkan pelarut eutektik dalam (DES) yang meliputi asam laktat: glukosa: air dengan perbandingan 6:1:6 (Choi et al., 2011). Sampel propolis kemudian di vortex bersama pelarut eutektik dalam (DES) hingga diperoleh larutan yang homogen. Ekstrak yang dihasilkan berwarna coklat, tidak berwarna, dan berupa cairan kental.

Untuk memastikan ekstrak yang didapatkan tersebut benar mengandung fenol dilakukan uji kualitatif yaitu uji Folin-Ciocalteu dan membandingkan spektrum baku asam galat dengan ekstrak. Asam galat digunakan sebagai pembanding karena asam galat lebih stabil untuk membuat standar. Asam galat juga merupakan senyawa fenolat yang memiliki aktivitas antioksidan yang kuat (Nurhayati et al., 2012). Untuk uji Folin-Ciocalteu yaitu menggunakan pereaksi Folin-Ciocalteu dimana, prinsip dari metode ini adalah reaksi reduksi dan oksidasi kolorimetrik untuk mengukur semua senyawa fenolik dalam sampel. Pereaksi Folin-Ciocalteu mengoksidasi fenolat (garam alkali), mereduksi asam heteropoli menjadi suatu kompleks molibdenum-tungsten. Reagen Folin-Ciocalteu mengandung rangkaian polimerik yang mempunyai bentuk umum dengan pusat 3-unit tetrahedral fosfat (PO) dikelilingi oleh beberapa unit oktahedral asam-oksi molibdenum. Struktur tungsten dapat dengan bebas bersubstitusi dengan molibdenum. Selama reaksi berlangsung, gugus fenolik-hidroksil bereaksi dengan pereaksi Folin-Ciocalteu, membentuk kompleks fosfotungstat-fosfomolibdat berwarna biru dan dapat dideteksi dengan spektrofotometer. Warna biru yang terbentuk semakin pekat sebanding dengan konsentrasi ion fenolat yang terbentuk, oleh karena itu semakin besar konsentrasi dari senyawa fenolik semakin banyak ion fenolat yang mereduksi asam heteropoli sehingga warna biru yang dihasilkan semakin pekat (Rahayu & Inanda, 2015). Hasil yang didapatkan bahwa ekstrak yang direaksikan dengan pereaksi Folin-Ciocalteu menghasilkan warna biru kehitaman yang tidak jauh berbeda dengan hasil reaksi antara asam galat dengan Folin-Ciocalteu.

Adapun untuk pengujian melalui pengamatan spektrum dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis untuk ekstrak propolis dan asam galat hasilnya yaitu ekstrak propolis menunjukkan serapan maksimum pada panjang gelombang 264,50 nm, sedangkan asam galat menunjukkan serapan maksimum pada panjang gelombang 265,50 nm. Sehingga dari pengujian secara kualitatif didapatkan kesan bahwa ekstrak propolis yang di ekstraksi dengan pelarut eutektik dalam (DES) memiliki kesamaan dengan asam galat dalam hal ini sebagai pembanding dari fenol. Kelarutan fenol terhadap asam laktat, glukosa, dan air yaitu sama-sama bersifat polar, maka dari itu kemungkinan dapat menarik senyawa fenol pada suatu sampel.

Selanjutnya yaitu uji kuantitatif untuk mengetahui kadar fenol pada sampel, untuk menentukan kadar fenol digunakan larutan standar, dimana larutan standar yang digunakan adalah asam galat dengan konsentrasi 100 ppm. Panjang gelombang maksimum fenol pada serapan yang berkisar 400-800 nm dan dihasilkan panjang gelombang maksimum pada larutan standar asam galat yaitu 714 nm. Penentuan panjang gelombang maksimum bertujuan agar absorbansi sampel berada pada panjang gelombang maksimum sehingga didapat hasil yang maksimal.

Setelah penentuan panjang gelombang maksimum dilanjutkan dengan pembuatan kurva baku. Dari larutan standar 100 ppm kemudian dibuat beberapa seri larutan dengan konsentrasi 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm. Larutan diukur dengan kekuatan serapan dengan panjang gelombang maksimum 714 nm. Dari hasil pengukuran didapatkan absorbansi berturut-turut yaitu 0,205; 0,438; 0,656; 0,879. Tujuan dari pembuatan kurva baku asam galat yaitu agar dapat menentukan kadar senyawa fenol dalam sampel menggunakan persamaan regresi linear dari kurva baku asam galat. Dari hasil pengukuran spektrofotometri UV-Vis, dapat dibuat persamaan regresi linear yaitu $y = 0,0126441 x + -0,0733932$. Dimana y = kekuatan serapan, x = konsentrasi dan koefisien, $r^2=0.98701$ yang membuktikan bahwa persamaan regresi tersebut linear.

Pada pengukuran kekuatan serapan sampel sebesar 0,020 didapatkan hasil penetapan kadar fenol pada propolis dengan metode spektrofotometri UV-Vis yang telah disubstitusikan kedalam persamaan regresi linear, dari persamaan tersebut digunakan untuk menghitung kadar fenol total dan didapatkan hasil kadar fenol sebesar 0,1436 %.

KESIMPULAN

Senyawa fenol pada propolis dapat di ekstraksi dengan pelarut eutektik dalam (DES) kombinasi asam laktat, glukosa, dan air dan kadar total fenolik yang didapatkan yaitu 0,1436 %

SARAN

Peneliti selanjutnya mengembangkan penelitian ini dengan kombinasi pelarut-pelarut yang efektif dalam mengekstrak senyawa-senyawa fenolik.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kami sampaikan kepada Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat dan Pengelola Laboratorium Farmasi Institut Ilmu Kesehatan Pelamonia yang telah memberika dukungan terhadap penelitian yang telah dilaksanakan.

DAFTAR PUSTAKA

- Choi, Y. H., van Spronsen, J., Dai, Y., Verberne, M., Hollmann, F., Arends, I. W. C. E., Witkamp, G. J., & Verpoorte, R. (2011). Are natural deep eutectic solvents the missing link in understanding cellular metabolism and physiology? *Plant Physiology*, 156(4), 1701–1705. <https://doi.org/10.1104/pp.111.178426>
- Cui, J., Duan, X., Ke, L., Pan, X., Liu, J., Song, X., Ma, W., Zhang, W., Liu, Y., & Fan, Y. (2022). Extraction, purification, structural character and biological properties of propolis flavonoids: A review. *Fitoterapia*, 157, 105106. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.fitote.2021.105106>
- Damodaran, T. (2021). *Chapter 46 - Propolis* (R. C. Gupta, R. Lall, & A. B. T.-N. (Second E. Srivastava (eds.); pp. 795–812). Academic Press. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-821038-3.00046-X>
- El Achkar, T., Greige-Gerges, H., & Fourmentin, S. (2021). Basics and properties of deep eutectic solvents: a review. *Environmental Chemistry Letters*, 19, 3397–3408.
- Hakim, A. R., & Saputri, R. (2020). Narrative Review: Optimasi Etanol sebagai Pelarut Senyawa Flavonoid dan Fenolik: Narrative Review: Optimization of Ethanol as a Solvent for Flavonoids and Phenolic Compounds. *Jurnal Surya Medika (JSM)*, 6(1), 177–180.
- Hansen, B. B., Spittle, S., Chen, B., Poe, D., Zhang, Y., Klein, J. M., Horton, A., Adhikari, L., Zelovich, T., & Doherty, B. W. (2020). Deep eutectic solvents: A review of fundamentals and applications. *Chemical Reviews*, 121(3), 1232–1285.
- Nurhayati, Siadi, K., & Harjono. (2012). Pengaruh Konsentrasi Natrium Benzoat dan Lama Penyimpanan Pada Kadar Fenolat Total Pasta Tomat (*Lycopersicum esculentum* Mill). *Indonesian Journal of Chemical Science*, 1(2), 158–163.
- Paradiso, V. M., Clemente, A., Summo, C., Pasqualone, A., & Caponio, F. (2016). Extraction of phenolic compounds from extra virgin olive oil by a natural deep eutectic solvent: Data on UV absorption of the extracts. *Data in Brief*, 8, 553–556. <https://doi.org/10.1016/j.dib.2016.05.076>
- Rahayu, & Inanda. (2015). Penetapan kadar fenol total ekstrak etil asetat dan fraksi dichloromethan-etil asetat kulit batang munda (*Garcinia dulcis*. Kurz). *Biomedika*, 8(2), 37–44.
- Rollando & Monica, E. (2018). Penetapan kandungan fenolik total dan uji aktivitas antioksidan fraksi air ekstrak metanol kulit batang faloak (*Sterculia quadrifida* R. Br). *Scientia: Jurnal Farmasi Dan Kesehatan*; 8; 29, 36.
- Smith, E. L., Abbott, A. P., & Ryder, K. S. (2014). Deep eutectic solvents (DESS) and their applications. *Chemical Reviews*, 114(21), 11060–11082.
- Sulaeman, A., Fikri, A. M., Kalsum, N., & Mahani, M. (2019). *Chapter 25 - Trigona Propolis and Its Potency for Health and Healing Process* (R. B. Singh, R. R. Watson, & T. B. T.-T. R. of F. F. S. in G. H. Takahashi (eds.); pp. 425–448). Academic Press. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813148-0.00025-6>
- Sulaeman, A., Fikri, A. M., & Mulyati, A. H. (2022). *Chapter 32 - The bee propolis for preventing and healing non-communicable diseases* (R. B. Singh, S. Watanabe, & A. A. B. T.-F. F. and N. in M. and N.-C. D. Isaza (eds.); pp. 465–479). Academic Press. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819815-5.00043-4>
- Suresh, P. S., Singh, P. P., Anmol, Kapoor, S., Padwad, Y. S., & Sharma, U. (2022). Lactic acid-based deep eutectic solvent: An efficient green media for the selective extraction of steroidal saponins from *Trillium govanianum*. *Separation and Purification Technology*, 294, 121105. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.seppur.2022.121105>
- Thakur, R., Gupta, V., Ghosh, T., & Das, A. B. (2022). Effect of anthocyanin-natural deep eutectic solvent (lactic acid/fructose) on mechanical, thermal, barrier, and pH-sensitive properties of polyvinyl alcohol based edible films. *Food Packaging and Shelf Life*, 33, 100914. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2022.100914>
- Verma, N., & Himshweta. (2023). *Chapter 15 - Extraction of phenolic compounds by conventional and green*

- innovative techniques* (D. Inamuddin & T. B. T.-G. S. P. for C. and E. E. and S. Altalhi (eds.); pp. 355–394). Elsevier. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-323-95156-2.00004-0>
- Zahra, N. N., Muliasari, H., Andayani, Y., & Sudarma, I. M. (2021). Analisis Kadar Fenolik Total Dan Aktivitas Antiradikal Bebas Madu Dan Propolis Trigona Sp. Asal Lombok Utara. *Analit: Analytical and Environmental Chemistry*, 6(1), 74–82.