

Gleichenia linearis (Burm.) C. B. Clarke Leaves Extract Potent as a Medicinal Plant Based on Its Phytochemical Profile and The Total Phenolic Content

(Ekstrak Daun Paku Resam (*Gleichenia linearis* (Burm.) C.B. Clarke) Berpotensi sebagai Tanaman Obat berdasarkan Profil Fitokimia dan Kadar Total Fenol)

Monica Kharisma Swandi*, Salmi

Program Studi Biologi, Fakultas Pertanian, Perikanan dan Biologi, Universitas Bangka Belitung,
Kabupaten Bangka, Kepulauan Bangka Belitung 33172, Indonesia

ABSTRACT

Resam fern (*Gleichenia linearis* (Burm.) C.B. Clarke) is a terrestrial plant that is easy to grow and has been used for medicinal purposes as by the community empirically. This study aimed to explore the potential of *Gleichenia linearis* (Burm.) C.B. Clarke as medicinal plants based on their phytochemical profiles and total phenol content of the extract. *Gleichenia linearis* (Burm.) C.B. Clarke leaves were extracted with aquadest and methanol as a solvent by maceration method. Phytochemical content was detected qualitatively and the total phenol content was determined using colorimetric method with Folin-Ciocalteu reagent. As the result, qualitative screening for secondary metabolic contents in *Gleichenia linearis* (Burm.) C.B. Clarke extract found that the aqueous extract contains alkaloids, phenols, flavonoids, tannins, triterpenoids and steroids, but the saponin and steroid were not detected. In the methanol extract, all secondary metabolites were detected except triterpenoids. The total phenol content of methanol extract was higher than that of aqueous extract with levels of 127,08 mg/g GAE and 42,32 mg/g GAE, respectively. Based on these findings, it can be concluded that the *Gleichenia linearis* (Burm.) C.B. Clarke leaf has the potential to be developed as a medicinal plant.

Paku resam (*Gleichenia linearis* (Burm.)) adalah tanaman terestrial yang mudah tumbuh dan dimanfaatkan oleh masyarakat untuk tujuan pengobatan secara empiris. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis fitokimia dan kadar total fenol daun paku resam dengan membandingkan dua pelarut yang digunakan yaitu metanol dan air. Daun paku resam diekstraksi dengan pelarut metanol dan air dengan metode maserasi pada perbandingan 1:10. Kandungan fitokimia dideteksi secara kualitatif yang meliputi alkaloid, flavonoid, fenolik, tanin, saponin, triterpenoid, dan steroid. Kadar total fenol ditentukan menggunakan metode kolorimetri dengan pereaksi Folin-Ciocalteu. Hasil analisis menunjukkan bahwa ekstrak air daun paku resam mengandung alkaloid, fenol, flavonoid, tanin, triterpenoid dan tidak terdeteksi kandungan steroid dan saponin. Pada ekstrak metanol daun paku resam, semua kandungan metabolit sekunder terdeteksi kecuali triterpenoid. Kadar total fenol ekstrak metanol lebih tinggi dibandingkan ekstrak air dengan kadar masing-masing 127,08 mg/g GAE dan 42,32 mg/g GAE. Berdasarkan temuan ini, dapat disimpulkan bahwa daun paku resam berpotensi untuk dikembangkan sebagai tanaman obat.

Keywords: *Gleichenia linearis* (Burm.) C.B. Clarke, Phytochemical, Phenolic content.

*Corresponding author:
Monica Kharisma Swandi
E-mail: monica@ubb.ac.id

PENDAHULUAN

Paku resam atau *Gleichenia linearis* (Burm.) C.B. Clarke merupakan salah satu jenis paku-pakuan yang tumbuh secara terestrial di tempat terbuka, di daerah tepi sungai dan tebing-tebing di tepi jalan pengunungan. Paku resam memiliki daun yang menyirip berjajar dua dan tangkainya bercabang

mendua (dikotom). Tumbuhan ini dapat tumbuh memanjat dan menggantung. Tipe akar paku resam adalah serabut. Batang tegak dengan percabangan dua dan masing-masing cabang bercabang dua lagi dan seterusnya. Tumbuhan ini tumbuh berkelompok pada ketinggian 150-2100 mdpl dengan kondisi lembab [1].

Paku resam dikenal juga sebagai tanaman invasif karena mendominasi permukaan tanah dan

menghambat pertumbuhan lainnya. Tumbuhan ini dapat memberi manfaat dengan kemampuannya menyuburkan tanah serta menyerap racun yang ada disekitar tempat tumbuhnya [2]. Beberapa pemanfaatan lain dari paku resam oleh masyarakat diantaranya sebagai tanaman hias, akar dan batang paku resam sebagai bahan untuk pembuatan produk kerajinan, alat penggosok dan alat pembersih. Penggunaan paku resam terutama bagian daun berpotensi untuk tujuan pengobatan yang dilakukan oleh masyarakat secara tradisional. Masyarakat Malaysia menggunakan tumbuhan ini sebagai tonik dan penurun suhu tubuh [3] dan [4]. Masyarakat Papua New Guinea memanfaatkan paku resam dalam mengobati luka dan ulkus secara tradisional [5]. Di Indonesia, paku resam juga menjadi salah satu tanaman obat yang sering dimanfaatkan masyarakat dan memperkaya etnobotani Indonesia. Masyarakat Desa Saham, Kalimantan Barat dan Masyarakat Desa Bukit Mas, Sumatera Utara telah menggunakan daun paku resam untuk pengobatan demam dengan cara direbus [6]. Masyarakat Bangka Belitung memanfaatkan daun tumbuhan ini sebagai alternatif sabun pencuci muka [7].

Studi saintifik untuk mengetahui manfaat paku resam bagi kesehatan juga sudah dilakukan. Aktivitas biologis paku resam yang bermanfaat bagi kesehatan disebabkan oleh kandungan senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada tiap bagian paku. Kandungan senyawa metabolit sekunder pada paku resam dengan menggunakan ekstrak etanol 70% menghasilkan flavonoid, alkaloid, steroid, saponin, tanin, dan quinon [8]. Paku resam juga memberikan manfaat sebagai antijamur, antivirus [9], antiinflamasi, dan antikanker [10]. Ekstrak metanol paku resam telah dilaporkan sebagai antibakteri terhadap bakteri penyebab akne vulgaris [11]. Namun kandungan senyawa metabolit sekunder menggunakan ekstrak metanol dan air belum dilaporkan. Oleh karena itu, penting untuk dilakukannya pengujian fitokimia ekstrak metanol dan ekstrak air daun paku resam asal Bangka Belitung. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis fitokimia dan kadar total fenol daun paku resam dengan membandingkan dua pelarut yang digunakan yaitu metanol dan akuades. Hasil penelitian ini diharapkan menjadi acuan dalam penelitian lanjutan sebagai salah satu kandidat bahan pembuatan obat.

METODE PENELITIAN

1. Pengambilan dan Preparasi Sampel

Sampel berupa daun paku resam yang diambil pada bagian pucuk daun yang berwarna hijau muda. Daun selanjutnya dibersihkan dengan air mengalir sampai kotoran yang menempel terlepas kemudian ditiriskan. Daun paku resam yang sudah bersih selanjutnya dikeringkan pada suhu ruang. Pengeringan dilanjutkan menggunakan oven pada suhu 50 °C hingga diperoleh kadar air $\leq 10\%$. Daun paku resam yang telah kering dihaluskan hingga diperoleh serbuk berukuran 100 mesh. Serbuk tersebut yang selanjutnya disebut sebagai simplisia [8].

2. Analisis Kadar Air (modifikasi metode SNI 01-2891-1992)

Cawan porselen bersih ditimbang bobot awalnya. Cawan dikeringkan dalam oven bersuhu 105 °C selama 30 menit, didinginkan dan ditimbang bobot keringnya. Sebanyak dua gram sampel dimasukkan ke dalam cawan porselen, kemudian dimasukkan ke dalam oven bersuhu 105 °C selama 3 jam. Cawan beserta isinya diangkat dan didinginkan dalam desikator, lalu ditimbang bobotnya. Pengeringan dilakukan hingga diperoleh bobot yang tetap.

3. Ekstraksi Metanol Daun Paku Resam

Simplisia daun paku resam diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan perbandingan simplisia dan pelarut 1:10 selama 24 jam sambil digoyang menggunakan shaker dengan kecepatan 150 rpm. Pelarut dan simplisia dipisahkan menggunakan kertas saring. Residu dimaserasi kembali dengan pelarut yang sama hingga 3 kali pengulangan. Filtrat yang diperoleh dari 3 kali maserasi digabungkan dan dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 50 °C hingga diperoleh ekstrak berbentuk pasta [12].

4. Ekstraksi Air Daun Paku Resam

Ekstrak air daun paku resam diperoleh dengan metode perebusan simplisia. Ekstraksi air dilakukan dengan mencampur simplisia dan akuades dengan perbandingan 1:10. Campuran simplisia dan akuades selanjutnya direbus pada suhu 60 °C selama 5 jam. Hasil rebusan selanjutnya disaring dengan kalin blacu dan disaring kembali dengan kertas saring. Residu direbus ulang dengan metode yang sama hingga diperoleh ekstraksi sebanyak 3 kali. Hasil ekstrak digabungkan dan dipekatkan dengan *rotary evaporator*

pada suhu 50 °C hingga diperoleh ekstrak yang berbentuk pasta [12].

5. Analisis Fitokimia - Uji Alkaloid (modifikasi Harbone [13])

Sebanyak 0,1 gram ekstrak dilarutkan dengan 5 mL kloroform dan 5 tetes amoniak. Fraksi kloroform dipisahkan dan diasamkan dengan 1,5 mL H₂SO₄ 2 M (Modifikasi pada volume pereaksi). Fraksi asam dibagi ke dalam 3 tabung, kemudian masing-masing tabung ditambahkan dengan pereaksi Dragendorf, Meyer dan Wagner. Adanya alkaloid ditandai dengan terbentuknya endapan putih pada pereaksi Meyer, endapan merah pada pereaksi Dragendorf dan endapan coklat pada pereaksi Wagner.

6. Analisis Fitokimia - Uji Flavonoid dan Fenolik (modifikasi Harbone [13])

Sebanyak 0,1 g ekstrak dilarutkan dengan 5 mL metanol, lalu dipanaskan pada suhu 50 °C (Modifikasi perbandingan ekstrak dan metanol). Filtratnya dibagi ke dalam dua tabung. Filtrat pertama ditambah H₂SO₄ pekat, jika warna merah yang terbentuk maka positif adanya senyawa flavonoid. Filtrat kedua ditambah dengan NaOH 10%, jika warna merah yang terbentuk maka positif adanya senyawa fenolik hidroquinon.

7. Analisis Fitokimia - Uji Tanin (modifikasi Harbone [13])

Sebanyak 0,05 gram ekstrak ditambah dengan akuades 2,5 mL kemudian dididihkan pada suhu 100 °C selama 5 menit. Larutan tersebut kemudian ditambahkan 1 tetes FeCl₃ 1N (Modifikasi konsentrasi FeCl₃). Adanya kandungan tanin ditunjukkan dengan terbentuknya warna biru atau hijau kehitaman.

8. Analisis Fitokimia - Uji Saponin (modifikasi Harbone [13])

Sebanyak 0,05 g ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambah dengan 2,5 mL akuades (Modifikasi pada perbandingan ekstrak dan pelarut). Larutan selanjutnya dididihkan pada suhu 100 °C selama 5 menit, lalu dikocok hingga berbusa. Adanya kandungan saponin ditunjukkan dengan terbentuknya busa yang stabil selama 15 menit.

9. Analisis Fitokimia - Uji Triterpenoid dan Steroid (modifikasi Harbone [13])

Sebanyak 0,1 gram ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi lalu ditambahkan dengan 5 mL etanol 30% (Modifikasi pada persentase etanol). Campuran selanjutnya dipanaskan di atas bunsen ±1 menit dan

disaring. Filtratnya diuapkan lalu ditambahkan dengan dietileter hingga larut. Fraksi dietileter diambil lalu ditambahkan pereaksi Liebermen Buchard (3 tetes asam asetat anhidrida dan 1 tetes H₂SO₄ pekat). Adanya steroid ditunjukkan dengan terbentuknya warna biru atau hijau, sedangkan triterpenoid ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah atau ungu.

10. Penentuan Kadar Total Fenol

Sebanyak 0,3 mL larutan ekstrak dicampur dengan 1,5 mL reagent Folin-Cieocalteau dan 1,2 sodium karbonat 7,5% (w/v). Campuran disimpan dalam ruang gelap selama 30 menit, kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang 743 nm. Kurva standar dibuat dengan standar asam galat, dimana y adalah absorpsi pada 743 nm, dan x adalah konsentrasi asam galat dalam mg/l. Kadar total fenol dinyatakan sebagai mg ekuivalen asam galat (gallic acid equivalent-GAE)/100 g daun segar [14].

11. Analisis Data

Data penelitian disajikan secara deskriptif. Kadar air dinyatakan dalam persentase ±SD. Hasil penapisan fitokimia dinyatakan dalam tanda positif (+) jika terdapat metabolit sekunder yang diuji dan tanda negatif (-) jika tidak terdapat metabolit sekunder. Kadar total fenol pada kedua ekstrak dinyatakan sebagai mg/g GAE ±SD.

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Kadar Air dan Ekstraksi Daun Paku Resam

Simplisia daun paku resam yang diperoleh memiliki persentase kadar air sebesar 8,74±0,17% seperti pada Tabel 1. Syarat minimal kadar air dalam simplisia yaitu <10% [15]. Kadar air yang rendah akan menurunkan kemungkinan terjadinya pertumbuhan bakteri maupun jamur saat penyimpanan [16]. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa simplisia daun paku resam telah memenuhi syarat minimal kadar air dan aman dalam tahap penyimpanan.

Ekstraksi metabolit sekunder daun paku resam dilakukan dengan metode maserasi dengan dua jenis pelarut air dan metanol. Maserasi adalah metode ekstraksi yang konvensional yang memiliki keuntungan seperti peralatan yang sederhana, tidak membutuhkan keahlian khusus dari peneliti, hemat energi, dan murah [17].

Tabel 1. Kadar air serbuk daun paku resam

Ulangan ke-	Bobot awal (g)	Bobot akhir (g)	Kadar air (%)	Rerata Kadar air \pm SD (%)
1	2,0000	1,8228	8,86	8,74 \pm 0,17
2	2,0000	1,8236	8,82	
3	2,0000	1,8290	8,55	

Tabel 2. Kandungan metabolit sekunder ekstrak air dan ekstrak metanol daun paku resam

No	Senyawa Metabolit Sekunder	Ekstrak Air	Ekstrak Metanol	Keterangan
1	Alkaloid			
	R. Dragendorff	+	+	Endapan coklat
	R. Wagner	+	+	Endapan merah kecoklatan
2	Fenol hidroquinon	+	+	Endapan cream
		+	+	Larutan berwarna merah
3	Flavonoid	+	+	Larutan berwarna merah
4	Tanin	+	+	Endapan biru kehitaman
5	Saponin	-	+	Terbentuknya busa yang stabil
6	Steroid/Triterpenoid	(-) steroid	(+) steroid	(+) steroid;
		(+) triterpenoid	(-) triterpenoid	(-) triterpenoid

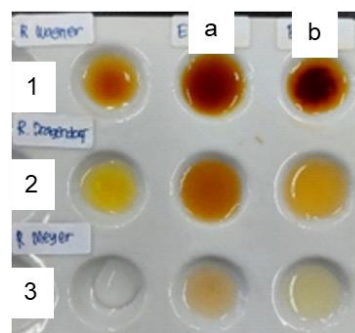
Selama proses ekstraksi, metabolit sekunder akan terlarut dan berdifusi pada fase pelarut. Kelarutan metabolit sekunder ini didasarkan pada prinsip “*like dissolve like*”, senyawa yang polar akan larut pada pelarut polar dan senyawa non-polar akan larut pada pelarut non polar [18]. Air dan metanol adalah dua pelarut yang bersifat polar, namun berbeda tingkat kepolarannya. Air adalah pelarut paling polar, sedangkan metanol memiliki tingkat kepolaran yang lebih rendah dari air. Penggunaan air didasarkan pada kebiasaan masyarakat dalam mengolah bahan alam dengan pelarut air, sedangkan pemilihan metanol sebagai pelarut dikarenakan metanol merupakan pelarut polar yang sering digunakan untuk mengekstraksi senyawa fenolik [19]. Pada akhir proses ekstraksi, pelarut yang digunakan diuapkan menggunakan *rotary evaporator* untuk mendapatkan ekstrak yang kental.

2. Penapisan Fitokimia

Penapisan fitokimia pada tanaman yang diduga memiliki khasiat obat berguna untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder pada tanaman tersebut. Penapisan fitokimia dilakukan secara kualitatif pada kedua ekstrak daun paku resam. Senyawa metabolit sekunder yang dideteksi pada penelitian ini meliputi alkaloid, fenol, flavonoid, tanin, saponin, steroid dan triterpenoid. Hasil penapisan kandungan metabolit sekunder ekstrak air dan ekstrak metanol daun paku resam dapat dilihat pada Tabel 2. Hasil menunjukkan bahwa ekstrak air daun paku

resam mengandung alkaloid, fenol, flavonoid, tanin, terpenoid dan tidak terdeteksi kandungan steroid dan saponin. Pada ekstrak metanol, semua kandungan metabolit sekunder terdeteksi kecuali triterpenoid.

Alkaloid merupakan kelompok metabolit sekunder yang mengandung nitrogen pada strukturnya. Senyawa metabolit sekunder yang memiliki prekursor asam amino ini dapat ditemukan dalam bentuk bebas, garam alkaloid atau oksida nitrogen [20]. Keberadaan alkaloid pada ekstrak pelarut dideteksi menggunakan tiga jenis reagent yaitu reagent Dragendorff, Wagner dan Mayer. Hasil penambahan ketiga reagent ini dapat dilihat pada Gambar 1. Kedua ekstrak pelarut daun paku resam menunjukkan reaksi positif alkaloid setelah penambahan reagent Dragendorff, Wagner dan Mayer.



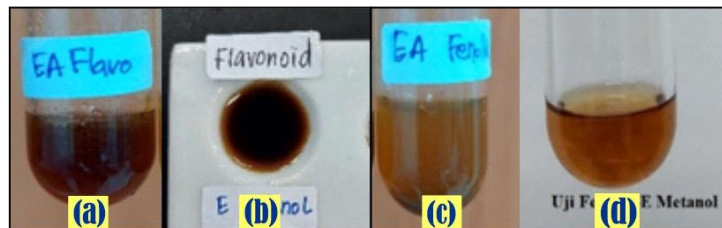
Keterangan: (1) reagent wagner, (2) reagent dragendorff, (3) reagent Mayer, (a) ekstrak air, (b) ekstrak metanol

Gambar 1. Penapisan senyawa alkaloid pada ekstrak air dan metanol daun paku resam

Hasil positif dengan penambahan reagent Dragendorff ditunjukkan dengan adanya endapan berwarna kuning hingga orange atau merah hingga coklat. Reagen Dragendorff mengandung kompleks kaliumtetraiodobismuthate yang terbentuk melalui reaksi antara komponen penyusun reagent berupa bismut subnitrat, kalium iodida dan asam seperti asam asetat atau asam tartarat. Gugus amina tersier R₃N yang terdapat pada sebagian besar alkaloid dapat bertindak sebagai basa dan dengan tambahan asam akan membentuk garam ammonium. Komplek berwarna akan terbentuk akibat reaksi pertukaran ion antara garam ammonium dan kaliumiodobismuthate [21]. Reaksi positif dengan reagent Mayer berupa endapan berwarna krem yang terbentuk akibat reaksi antara alkaloid dengan kaliummercuri iodida pada reagent Mayer. Pada penambahan reagent Wagner, reaksi positif akan ditunjukkan dengan endapan berwarna merah kecoklatan sebagai hasil reaksi antara komponen alkaloid dan kalium idodida yang terdapat pada reagent Wagner [22].

Komponen fenol merupakan senyawa kimia dengan gugus hidroksi terikat pada hidrokarbon

aromatik. Senyawa ini sangat tinggi keragamannya dalam metabolit sekunder. Berdasarkan jumlah karbon pada molekulnya, senyawa fenolik dikelompokkan menjadi fenol sederhana (C₆), asam fenol (C₆-C₁), asetofenol dan asam fenilasetat (C₆-C₂), asam sinamat, sinamil aldehid dan sinamil alkohol (C₆-C₃), kumarin, isokumarin dan kromona (C₆-C₃), Khalkona, aurona, dihidrokhalkona (C₆-C₃-C₆ (C₁₅) flavonoid), biflavonil (C₃₀), benzofenon dan santhon (C₆-C₁-C₆), stilben (C₆-C₂-C₆), kuinon (C₆, C₁₀, C₁₄) dan betasianin (C₁₈) [20]. Penapisan senyawa flavonoid dan fenolik hidroquinon dilakukan dengan melarutkan ekstrak dengan metanol. Keberadaan flavonoid diidentifikasi menggunakan reaksi Shibata/Uji Sianidin. Kedua ekstrak yang diuji berwarna merah setelah ditambahi Mg dan HCl yang menunjukkan adanya kandungan flavonoid pada ekstrak. Penapisan fenolik hidroquinon dilakukan dengan menambahkan NaOH pada ekstrak yang telah dilarutkan dengan metanol dan hasil positif ditunjukkan oleh warna merah seperti pada Gambar 2.



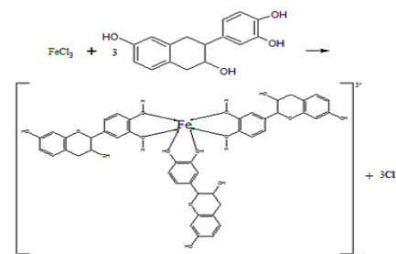
Keterangan: (a) uji flavonoid ekstrak air, (b) uji flavonoid ekstrak metanol, (c) uji fenolik hidroquinon ekstrak air, (d) uji fenolik hidroquinon ekstrak metanol

Gambar 2. Identifikasi kualitatif flavonoid dan fenolik hidroquinon ekstrak air dan metanol daun paku resam

Tanin termasuk dalam senyawa polifenol yang mengandung gugus hidroksil atau karboksil dan membentuk kompleks dengan makromolekul seperti karbohidrat. Penapisan tanin pada kedua ekstrak dilakukan dengan melarutkan ekstrak dalam air lalu direaksikan dengan FeCl₃. Hasil positif ditunjukkan dengan perubahan larutan menjadi hijau hingga biru kehitaman. Komplek warna ini terbentuk dari reaksi antara tanin dengan FeCl₃ [22].

Hasil pengujian menunjukkan kedua ekstrak mengandung senyawa tanin seperti pada Gambar 4. Kandungan tanin pada ekstrak air diduga lebih banyak dibandingkan ekstrak metanol jika dilihat dari intensitas warna biru kehitaman yang terbentuk. Kedua pelarut yang digunakan, air dan metanol adalah

2 pelarut polar yang dapat digunakan untuk ekstraksi senyawa polar seperti tanin. Namun hasil temuan pada penelitian ini berbeda jika dibandingkan dengan penelitian sebelumnya. Pelarut metanol dilaporkan mampu mengekstrak lebih banyak tannin dibandingkan air [24,25].



Gambar 3 Reaksi antara tannin dan FeCl₃ [23]

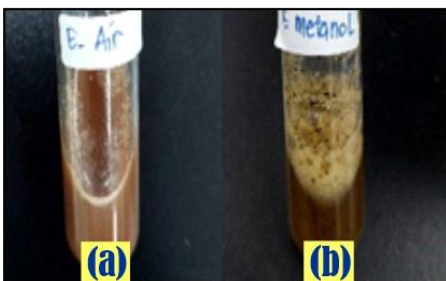
Adanya kemungkinan pembentukan kompleks tanin-protein menyebabkan efisiensi ekstraksi tanin dengan air lebih rendah dibandingkan metanol [26]. Adanya pengaruh suhu juga dapat meningkatkan efisiensi ekstraksi tanin. Penggunaan air panas dilaporkan menjadi metode yang banyak digunakan dalam industri maupun laboratorium [27].



Keterangan: (a) ekstrak air (b) ekstrak metanol

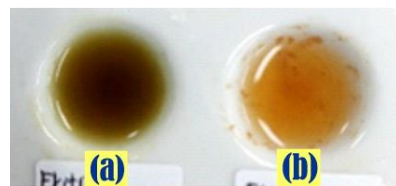
Gambar 4. Identifikasi kualitatif senyawa tanin pada ekstrak air dan metanol daun paku resam

Saponin diidentifikasi dengan melarutkan kedua ekstrak daun paku resam dengan air, kemudian mengocoknya dengan kencang. Hasil positif ditunjukkan dengan adanya busa yang stabil setelah didiamkan selama 10 menit [28]. Pengujian pada ekstrak metanol menunjukkan hasil positif saponin, namun pada ekstrak air kandungan saponin negatif/sangat rendah seperti pada Gambar 5. Perbedaan pelarut yang digunakan berpengaruh pada kelarutan saponin. Pelarut air menyebabkan kandungan saponin pada ekstrak paling rendah jika dibandingkan dengan pelarut lain seperti metanol, etanol dan aseton yang dicampur dengan air [29]. Saponin secara struktural mengandung aglikon yang larut lemak dan rantai gula yang larut air sehingga memberi sifat ampifilik [30]. Adanya gugus aglikon dengan sifat hidrofobik menyebabkan ekstraksi dengan air menjadi tidak optimal [31].



Keterangan : (a) ekstrak air, (b) ekstrak metanol

Gambar 5. Identifikasi senyawa saponin pada ekstrak daun paku resam



Keterangan : (a) ekstrak metanol, (b) ekstrak air

Gambar 6. Identifikasi senyawa triterpenoid dan steroid pada ekstrak daun resam

Penapisan triterpenoid dan steroid dilakukan dengan penambahan pereaksi Liebermann Burchard yang berisi asam asetat anhidrida dan H₂SO₄. Pereaksi Liebermann Burchard dapat menghasilkan respon warna yang beragam tergantung pada ikatan ganda, gugus fungsi dan keberadaan ikatan nonpolar pada senyawa [32]. Keberadaan senyawa steroid ditunjukkan dengan warna hijau kebiruan, sedangkan keberadaan senyawa triterpenoid ditunjukkan dengan warna merah atau ungu pada larutan sampel. Hasil pengujian menunjukkan bahwa ekstrak air mengandung triterpenoid, sedangkan ekstrak metanol mengandung steroid seperti pada Gambar 6.

3. Penentuan Kadar Total Fenol Ekstrak Daun Paku Resam

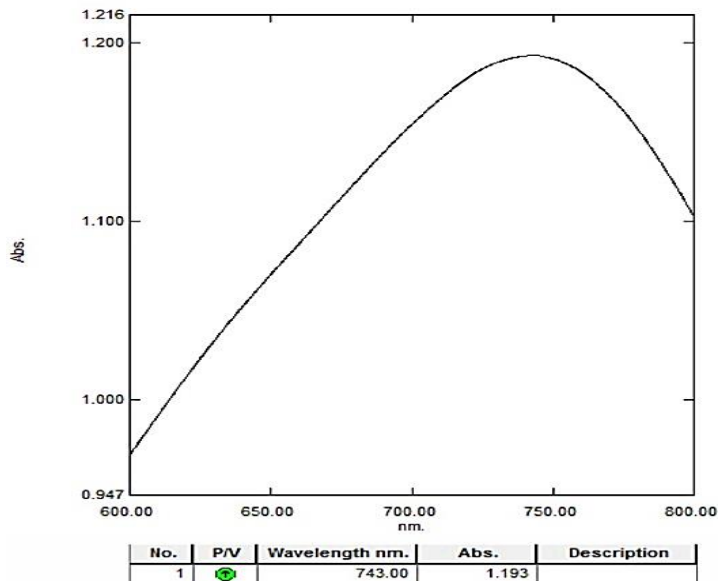
Penentuan kadar total fenol merujuk pada metode kolorimetri *Folin and Ciocaten* (Folin-C) [33]. Reagen utama yang digunakan yaitu Folin-ciocalteu yang berisi campuran asam fosfotungstat (H₃PW₁₂O₄₀) dan asam fosfomolibdat (H₃PMo₁₂O₄₀). Campuran kedua bahan ini bereaksi dengan senyawa fenol dan non-fenol tereduksi membentuk suatu kromogen yang dapat dideteksi secara spektrofotometri. Pada kondisi alkali, senyawa oksotungstat dan oksomolibdat akan terbentuk dalam reaksi redoks dan menampilkan warna biru yang proporsional dengan konsentrasi polifenol dari sampel yang diukur [34].

Panjang gelombang dan waktu inkubasi yang digunakan dioptimasi terlebih dahulu untuk mendapatkan hasil yang optimal. Optimasi panjang gelombang dilakukan dengan mengamati absorbansi asam galat sebagai standar fenol pada variasi panjang gelombang dengan rentang 600-800 nm. Panjang gelombang maksimal ditentukan berdasarkan absorbansi tertinggi asam galat. Hasil pengukuran absorbansi asam galat pada panjang gelombang berbeda menunjukkan nilai absorbansi tertinggi pada panjang gelombang 743 nm dan ditetapkan sebagai panjang gelombang maksimal seperti pada Gambar 7.

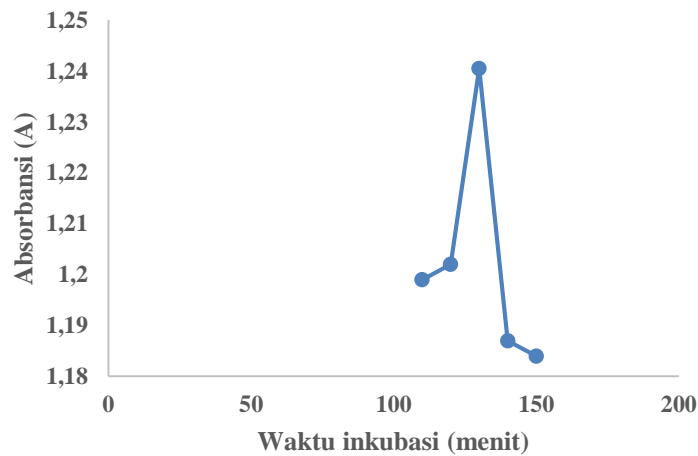
Waktu inkubasi dengan nilai absorbansi asam galat tertinggi dipilih sebagai waktu inkubasi optimal. Hasil pengukuran menunjukkan bahwa waktu inkubasi 130 menit menghasilkan nilai absorbansi asam galat tertinggi dan ditetapkan sebagai waktu inkubasi optimal seperti pada Gambar 8.

Kadar total fenol ekstrak daun paku resam diperoleh dengan memasukkan nilai absorbansi ekstrak (y) terhadap persamaan, sehingga diperoleh nilai x yang merupakan kadar fenol ekstrak yang ekuivalen dengan kadar asam galat. Hubungan linear antara konsentrasi dan absorbansi asam galat pada panjang gelombang maksimal (743 nm) diperoleh

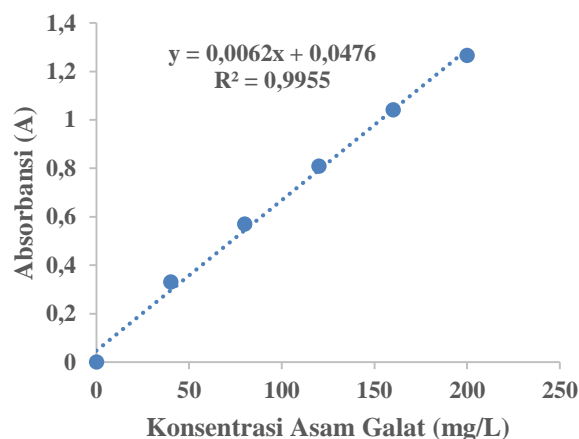
persamaan $y = 0,0062x + 0,0476$ dengan nilai $r^2 = 99,55\%$ seperti pada Gambar 9. Hasil pengukuran diperoleh kadar fenol ekstrak metanol daun paku resam lebih tinggi dibandingkan ekstrak airnya yaitu sebesar 127,08 mg/g GAE dan 42,32 mg/g GAE (Tabel 3). Perbedaan total fenol pada kedua ekstrak ini berkaitan dengan kelarutan senyawa fenol pada kedua pelarut. Senyawa fenolik memiliki kelarutan yang lebih tinggi pada pelarut organik yang kepolarannya lebih rendah dari air. Haminiuk [19], melaporkan bahwa penggunaan pelarut metanol 100% sebagai pelarut memberikan hasil kadar fenolik total tertinggi dibandingkan pelarut lainnya.



Gambar 7. Penentuan panjang gelombang maksimal asam galat



Gambar 8. Waktu inkubasi optimal asam galat



Gambar 9. Kurva standar asam galat

Tabel 3. Kandungan total fenol ekstrak daun paku resam

No.	Ekstrak daun paku resam	Ulangan	Nilai Absorbansi (A)	Total Fenol GAE (mg/g GAE)	Rerata Total Fenol GAE (mg/g GAE)
1	Ekstrak Air	A1	0,314	42,968	42,32±0,91
		A2	0,306	41,677	
2	Ekstrak Metanol	M1	0,822	124,903	127,08±3,08
		M2	0,849	129,258	

Komponen senyawa fenolik memiliki aktivitas biologis yang sangat bermanfaat. Senyawa fenolik mampu menghambat radikal bebas, dekomposisi peroksida, inaktivasi logam dan penangkap oksigen dalam sistem biologi, serta mencegah penyakit oksidatif [35]. Komponen metabolit sekunder ini lebih larut dalam pelarut organik polar karena keberadaan gugus hidroksil sehingga metanol dipilih menjadi pelarut pengekstraksinya [36]. Ekstrak air daun paku resam mengandung senyawa fenolik seperti asam kafeat dan asam 2-kumarat [37]. Adanya kandungan flavonoid pada paku resam memberi manfaat sebagai antijamur, antivirus [9], antiinflamasi, antikanker [10], dan antibakteri [11], sehingga berpotensi untuk dikembangkan sebagai tanaman obat.

KESIMPULAN

Pengujian metabolit sekunder secara kualitatif pada ekstrak air daun paku resam menunjukkan bahwa ekstrak air daun paku resam positif mengandung alkaloid, fenol, flavonoid, tanin, triterpenoid dan negatif mengandung steroid dan saponin. Pada ekstrak metanol daun paku resam, positif mengandung semua metabolit sekunder kecuali

triterpenoid. Analisis kuantitatif kandungan total fenol diperoleh kadar total fenol yang lebih tinggi pada ekstrak metanol dibandingkan ekstrak air dengan kadar masing-masing 127,08 mg/g GAE dan 42,32 mg/g GAE. Adanya kandungan senyawa metabolit sekunder pada daun paku resam ini menunjukkan adanya potensi daun paku resam untuk dikembangkan sebagai tanaman obat.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Universitas Bangka Belitung atas pendanaan penelitian melalui Skema Penelitian Dosen Tingkat Jurusan (PDTJ) pada tahun 2022 dengan kontrak penelitian pada Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat (LPPM) Nomor: 295.H/UN50/L/PP/2022.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] J. Batoro, Pengantar Umum Keanekaragaman Hayati dan Tumbuhan Beracun, Jakarta: Media Nusa Creative (MNC Publishing), 2021.
- [2] H. Hasibuan, P. W. Rizalinda, and E. Rusmiyanto, "Inventarisasi jenis paku-pakuan (*Pteridophyta*) di hutan

- sebelah darat Kecamatan Sungai Ambawang Kalimantan Barat,” *Protobiont*, vol. 5, no. 1, 2016.
- [3] Z. A. Zakaria, F. H. Kamisan, N. M. Nasir, L. K. Teh, and M. Z. Salleh, “Aqueous partition of methanolic extract of *Dicranopteris lienaris* leaves protects against liver damage induced by Paracetamol,” *Nutrient*, vol. 11, pp. 29-45, 2019.
- [4] Z. A. Zakaria, A. M. Jais, M. Mastura, S. H. Jusoh, A. M. Mohamed, and N. S. M. Jamil, “In vitro antistaphylococcal activity of extract of several neglected plants in Malaysia,” *Int. J. Pharm*, vol. 3, no. 5, pp. 428-431, 2007.
- [5] F. H. Kamisan, F. Yahya, S. S. Mamat, M. F. F. Kamarolzaman, N. Mohtarrudin, and T. L. Kek, “Effect of methanol extract of *Dicranopteris linearis* against carbon tetrachloride-induced acute liver injury in rats,” *BMC Complementary & Alternative Medicine*, vol. 14, pp. 123, 2014.
- [6] G. W. Winda, S. Budhi, and L. Sisilia, “Etnobotani masyarakat desa saham (Studi kasus di Desa Saham, Kecamatan Sengah Temila Kabupaten Landak, Kalimantan Barat,” *J. Hutan Lestari*, vol. 4, no. 1, pp. 1-8, 2015.
- [7] J. Nasution, P. D. Masitah, and Riyanto, “Kajian etnobotani tumbuhan obat oleh etnis masyarakat di dusun Aras Napal Kiri dan Dusun Aras Napal Kanan Desa Bukit Mas Kecamatan Besitang Kabupaten Langkat,” *Jurnal Biosains*, vol. 2, no. 2, pp. 91-96, 2016.
- [8] O. Komalasari, S. Maryani, O. Juairiyah, and D. Novriadhy, “Kearifan lokal masyarakat Desa Bakung dalam memanfaatkan Resam (*Gleichenia linearis*), Seduduk (*Melastoma malabathricum*) dan Tembesu (*Fagraea fragrans*) yang tumbuh di tanah bergambut sebagai obat herbal,” In: *Seminar Nasional Laban Suboptimal*, pp. 354-359, 2019.
- [9] L. A. Weston, and U. Mathesius, “Flavonoids: their structure, biosynthesis and role in the rhizosphere including allelopathy”, *J. Chem. Ecol*, vol. 39, pp. 283-297, 2013.
- [10] A. N. Pache, A. D. Diwan, and S. R. Chandra, “Flavonoids: an overview,” *J. Nutr. Sc*, vol. 5, pp. 47, 2016.
- [11] Salmi dan Swandi, M. K, “Uji aktivitas antibakteri ekstrak metanol daun paku resam (*Gleichenia linearis* Burm.) pada tiga bakteri penyebab akne vulgaris,” *Pharmaceutical and Biomedical Sciences Journal*, vol. 4, no. 2, pp. 69-78, 2022.
- [12] Badan Pengawas Obat dan Makanan, Monografi Ekstrak Tumbuhan dan Obat Indonesia, Jakarta: BPOM RI, 2004.
- [13] J. B. Harborne, *Phytochemical Methods: A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis*, London: Chapman and Hall, 2007.
- [14] H. Y. Lai, Y. Y. Lim, and S. P. Tan, “Antioxidative, tyrosinase inhibiting and antibacteria activities of leaf extracts from medicinal ferns,” *Bioscience*, vol. 73, no. 6, pp. 1362-1366, 2014.
- [15] A. Saifudin, V. Rahayu, H. W. Teruna, Standardisasi Bahan Obat Alam, Jakarta: Graha Ilmu, 2011.
- [16] Katno, *Penanganan Pasca Panen Tanaman Obat*, Departemen Kesehatan: Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional, 2008.
- [17] M. G. Rasul, “Conventional extraction methods use in medicinal plants, their advantages and disadvantages,” *International Journal of Basic Sciences and Applied Computing*, vol. 2, no. 6, pp. 10-14, 2018.
- [18] K. M. Roopashree, D. Naik, “Advanced method of secondary metabolite extraction and quality analysis,” *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, vol. 8, no. 3, pp. 1829-1842, 2019.
- [19] C. W. I. Haminiuk, M. S. V. Plata-Oviedo, G. de Mattos, S. T. Carpes, and I. G. Branco, “Extraction and quantification of phenolic acids and flavonols from *Eugenia pyriformis* using different solvents,” *J. Food Sci. Technol*, vol. 51, no. 10, pp. 2862-2866, 2014.
- [20] I. F. G. Mera, D. E. G. Falconi, V. M. Cordova, “Secondary metabolite in plants: main classes, phytochemical analysis and pharmacological activities,” *Bionatura*, vol. 4, no. 4, pp. 1000-1009, 2019.
- [21] A. Raal, A. Moes, H. Hinrikus, J. Heinamaki, E. Romane, V. Gudiene, V. Jakstas, O. Koshovyi, A. Kovaleva, C. Fursenco, T. Chiru, H. T. Nguyen, “Dragendorff’s reagent: Historical perspective and current status of versatile reagent introduced over 150 years ago at the University of Dorpat, Tart, Estonia,” *Pharmazie*, vol. 75, pp. 299-306, 2020.
- [22] W. C. Evans, *Trease and Evans Pharmacognosy* 16th Ed, New York: Elsevier, 2009.
- [23] E.K. Sulasmi, M. Saptasari, K. Mawaddah, F.A. Zulfia. “Tannin identification of 4 species Prerydophyta from Baluran National Park”, *IOP. Conf. Series: Journal of Physics: Conf. Series*, vol. 1241, pp. 012002, 2019.
- [24] R. Duraisamy, T. Shuge, B. Worku, A. K. Bereket, “Extraction, screening and spectral characterization of tannin from *Acacia xanthophloea* (Fever Tree) Bark. Res”, *J. Textile Leather*, vol. 1, no. 1, pp. 1-10, 2020.
- [25] R.A. Alfauzi, L. Hartati, D. Suhendra, T.P. Rahayu, N. Hidayah, “Ekstraksi senyawa bioaktif kulit jengkol (*Archidendron jiringa*) dengan konsentrasi pelarut metanol berbeda sebagai pakan tambahan ternak ruminansia”, *Jurnal Ilmu Nutrisi dan Teknologi Pakan*, vol. 20, no. 3. pp. 95-103, 2022.
- [26] N. Lokeswari, P. Sujatha, “Isolation of Tannins from *Caesalpinia Coriaria* and Effect of Physical

- Parameters”, *International Research Journal of Pharmacy*, vol. 2, no. 2, pp. 146-152, 2011.
- [27] A.K. Das, Md. N. Islam, Md. O. Faruk, Md. Ashaduzzaman, R. Dungani, “Review on tannins: extraction processes, applications and possibilities”, *South African Journal of Botany*, vol. 135, pp. 58-70, 2020
- [28] H. O. Edeoga, D. E. Okwu, B. O. Mbaebie, “Phytochemical constituents of some Nigerian medicinal plants”, *Afr. J. Biotechnol.*, vol. 4, pp. 685-688, 2005.
- [29] T. V. Ngo, C. J. Scarlett, M. C. Bowyer, P. D. Ngo, Q. V. Voung, “Impact of different extraction solvents on bioactive compounds and antioxidant capacity from the root of *Salina chinensis* L.”, *Journal of Food Quality*, vol. 2017, ID 9305047, 2017.
- [30] O. Guclu-unstudag, G. Mazza, “Saponins: properties, applications, and processing”, *Critical Review in Food Science and Nutrition*, vol. 47, pp. 231-258, 2007.
- [31] P. Riwanti, F. Izazih, A. Amaliyah, “Pengaruh perbedaan konsentrasi etanol pada kadar flavonoid total ekstrak etanol 50, 70 dan 96% *Sargassum polycystum* dari Madura”, *Journal of Pharmaceutical Care Anwar Medika (J-PhAM)*, vol. 2 no.2, pp. 82-95, 2020.
- [32] Q. Xiong, B. Ruan, F. G. Whitby, R. P. Tuohy, T. L. Belanger, R. I. Kelley, W. K. Wilson, G. J. Jr. Schroepfer, “A colorimetric assay for 7-dehydrocholesterol with potential application to screening for Smith-Lemli-Optitz syndrome”, *Chem. Phys. Lipid*, vol. 115, no. 1-2, pp. 1-15, 2002.
- [33] S. Kupina, C. Fileds, M. C. Roman, S. L. Brunelle, “Determination of total phenolic content using the folin-C assay: single-laboratory validation”, *Journal of AOAC International*, vol. 102, no. 1, 2019.
- [34] R. M. Lamuela-Raventos, Folin-Ciocalteu method for the measurement of total phenolic content and antioxidant capacity in Measurement of Antioxidant Activity & Capacity; Recent Trends and Applications, R. Apak, E. Capanoglu, and F. Shahidi, editors, Hoboken: John Wiley & Sons Ltd, 2018.
- [35] H. S. Oberoi, S. K. Sandhu, “Therapeutic and nutraceutical potential of bioactive compounds extracted from fruit residues Au-Babbar”, *Food Sci. Nutr.*, vol. 55, pp. 319-337, 2015.
- [36] L. Wang, and C. L. Weller, “Recent advance in extraction of nutraceutical from plants”, *Trends Food Sci. Technol.*, vol. 17, pp. 300-312, 2006.
- [37] R. Othman, R. Ramya, N. M. Hassan, S. Kamoora, “Qualitative and quantitative phenolic compound analysis of *Dicranopteris linearis* different fractional polarities leaves extract”, *J. Pharm. Nutr.*, vol. 10, no. 1, pp. 1-10, 2020.