

Original Article

Total Flavonoid Content and Antioxidant Activity of Temu Mangga (*Curcuma mangga* Val. & Zijp) and its Classification with Chemometrics

Total Kandungan Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Temu Mangga (*Curcuma mangga* Val. & Zijp) dan Profil Pengelompokannya dengan Kemometrika

Yuniar Intan Hartono¹, Indah Widyastuti¹, Hanna Zaidah Luthfah¹, Rosy Islamadina¹, Adelin Theresia Can¹, Abdul Rohman^{2,3*}

¹Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, 55281, Indonesia

²Departemen Kimia Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, 55281, Indonesia

³Institute of Halal Industry and Systems, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, 55281, Indonesia

*Corresponding author: Abdul Rohman | Email: abdulrohmanugm@gmail.com

Received: 4 November 2019; Revised: 27 December 2019; Accepted 31 December 2019; Published: 20 January 2020

Abstract: Indonesia is a rich country in terms of its biodiversity. Herbs that are widely used to maintain a healthy body comes from the *Zingiberaceae* family, including *temu mangga*. *Temu mangga* (*Curcuma mangga* Val. & Zijp) is effective for relieving gastric pain, diarrhea, menstrual pain, acne and ulcers, and increasing appetite. Besides, *temu mangga* is considered to have antioxidant activity due to the presence of the phenolic and flavonoid compounds. This study aims to determine the correlation and classification of *temu mangga* from various places based on total flavonoid content and antioxidant activities. The samples were extracted with methanol, then tested for total flavonoid content by $AlCl_3$ method and antioxidant activity by DPPH free radical capture method. Analysis was performed using correlation coefficient value and chemometrics PCA (Principal Component Analysis) and CA (Cluster Analysis) to see the relationship between total flavonoid content with their antioxidant activity and to see their classification. Total flavonoid content of methanolic extract of *temu mangga* gives a moderate correlation to its antioxidant activity with $r = -0.6085$ and clustering samples successfully determined by PCA and CA which resulted in 4 groups.

Keywords: *curcuma mangga* val. & zijp; methanolic extract; flavonoid; antioxidant; PCA; CA

Abstrak: Indonesia merupakan negara yang kaya akan keanekaragaman hayatinya. Salah satu tanaman herbal yang banyak dimanfaatkan untuk menjaga kesehatan tubuh berasal dari famili *Zingiberaceae*, di antaranya adalah temu mangga. Temu mangga (*Curcuma mangga* Val. & Zijp) berkhasiat sebagai pereda sakit maag, diare, penghilang nyeri haid, mengobati jerawat dan bisul, serta menambah nafsu makan. Selain itu, temu mangga diduga memiliki aktivitas antioksidan karena adanya senyawa fenolik dan flavonoid yang terkandung di dalamnya. Penelitian ini bertujuan untuk melihat korelasi dan pengelompokan temu mangga dari berbagai tempat berdasarkan kandungan flavonoid dan aktivitas antioksidannya. Sampel diekstraksi dengan metanol kemudian diuji kandungan flavonoidnya dengan metode $AlCl_3$ dan aktivitas

antioksidannya dengan metode penangkapan radikal bebas DPPH. Analisis dilakukan menggunakan nilai koefisien korelasi dan kemometrika PCA (*Principal Component Analysis*) and CA (*Cluster Analysis*) untuk melihat hubungan antara kandungan flavonoid dengan aktivitas antioksidannya serta untuk melihat profil pengelompokannya. Total kandungan flavonoid ekstrak metanolik temu mangga memberikan korelasi yang sedang terhadap aktivitas antioksidannya dengan nilai $r = -0,6085$ dan profil pengelompokan sampel berhasil ditentukan dengan PCA dan CA yang menghasilkan 4 kelompok.

Kata kunci: *curcuma mangga* val. & zipp; ekstrak metanolik; flavonoid; antioksidan; PCA; CA

1. PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara kepulauan dengan tingkat keanekaragaman flora dan fauna tertinggi kedua setelah Brazil. Salah satu bukti keanekaragaman sumber daya hayati tersebut adalah banyaknya spesies tanaman yang ada di Indonesia, yaitu sekitar 30.000 jenis spesies tanaman. Dari 30.000 spesies tanaman, 7.500 diantaranya memiliki khasiat obat. Namun, baru sekitar 1.200 jenis spesies saja yang sudah dimanfaatkan sebagai bahan baku obat herbal maupun jamu [1].

Salah satu tanaman obat yang banyak dibudidayakan berasal dari famili *Zingiberaceae*, yang dikenal sebagai temu-temuan. Salah satu tanaman dari famili *Zingiberaceae* yang banyak dimanfaatkan dan diketahui memiliki aktivitas antioksidan adalah temu mangga. Temu mangga merupakan tanaman semak tahunan yang memiliki ciri khas pada rimpangnya yang berwarna kuning lemon hingga kuning sulfur dan berbau khas seperti mangga [2]. Temu mangga berkhasiat sebagai antipiretik (penurun panas), antitoksin (penangkal racun), pencahar (laksatif), mencegah kanker, mengatasi sakit perut, mengecilkan rahim setelah melahirkan, mengurangi lemak di perut, menambah nafsu makan, mengatasi gatal-gatal (pruritis), luka, sesak napas (asma), radang saluran napas (bronkitis), demam, kembung, masuk angin, dan berkhasiat sebagai antioksidan [3]. Adanya aktivitas antioksidan pada temu mangga ini disebabkan karena temu mangga mengandung senyawa kurkumin, flavonoid, polifenol, dan asam *p*-hidroksisinamat [4]. Adanya senyawa flavonoid dalam temu mangga diduga berkaitan erat dengan aktivitas antioksidannya karena adanya gugus fenol yang dapat menghambat pembentukan peroksidasi lipid pada tahap inisiasi dan berperan sebagai peredam radikal bebas oksigen reaktif maupun radikal hidroksil dengan mendonorkan atom hidrogen ke radikal peroksil yang membentuk radikal flavonoid sehingga bereaksi dengan oksigen reaktif sehingga menjadi netral [5].

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa temu mangga memiliki aktivitas antioksidan seperti yang dilakukan oleh Pujimulyani *et al.* [6] yang meneliti aktivitas antioksidan fraksi etil asetat, butanol, dan etanol *C. mangga* berdasarkan penangkapan H_2O_2 dengan nilai IC50 berturut-turut sebesar 162,78 $\mu\text{g/mL}$, 566,06 $\mu\text{g/mL}$, dan 1031,32 $\mu\text{g/mL}$. Selain itu, Jalip *et al.* [7] telah meneliti aktivitas antioksidan ekstrak metanolik *C. mangga* menggunakan metode penangkapan radikal DPPH dan menunjukkan nilai IC50 sebesar 90,42 $\mu\text{g/mL}$. Dari studi yang ditemukan, ekstrak metanolik temu mangga memberikan aktivitas antioksidan yang lebih tinggi sehingga menjadi objek dalam penelitian ini. Selain itu, metanol juga banyak digunakan sebagai pelarut pengeskraksi senyawa-senyawa polar seperti fenolik dan flavonoid karena adanya prinsip

like dissolve like sehingga senyawa yang bersifat polar akan lebih mudah larut dalam pelarut yang lebih bersifat polar pula [8].

Pada umumnya, kandungan metabolit sekunder pada suatu tanaman dapat dipengaruhi oleh faktor internal (gen) dan faktor eksternal (cahaya, suhu, kelembaban, pH, kandungan unsur hara di dalam tanah, dan ketinggian tempat). Lokasi penanaman/ketinggian tempat akan sangat mempengaruhi pertumbuhan dan proses metabolisme dari tanaman sehingga akan menghasilkan kandungan senyawa yang berbeda-beda [9]. Oleh karena itu, kandungan flavonoid temu mangga akan berbeda-beda di berbagai tempat. Selain itu, masih belum diketahui apakah kandungan flavonoid temu mangga tersebut benar-benar berkorelasi terhadap aktivitas antioksidannya. Maka, penelitian ini dilakukan untuk menentukan profil korelasi dan profil pengelompokan ekstrak metanolik temu mangga dari berbagai tempat berdasarkan kandungan flavonoid dan aktivitas antioksidannya.

2. BAHAN DAN METODE

2.1. Bahan

Sampel rimpang temu mangga (*Curcuma mangga* Val. & Zijp) yang diperoleh dari beberapa pasar di Jawa Tengah, Jawa Timur, dan D.I. Yogyakarta (Tabel 1); metanol *p.a.*; DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil); akuades; 10% AlCl_3 (*p.a.*); 10% NaNO_2 (*p.a.*); 10% NaOH (*p.a.*); dan rutin (*working standard HPLC grade, purity 95%*).

2.2. Instrumentasi dan perangkat lunak

Instrumen yang digunakan dalam penelitian ini adalah Spektrofotometer UV-Vis Double Beam seri U-2900 (Hitachi, Tokyo, Japan). Data diolah dengan Microsoft Excel (Microsoft Inc., USA) untuk kemudian dianalisis dengan kemometrika PCA dan CA menggunakan perangkat lunak Minitab versi 19.1 (Minitab Inc., USA).

2.3. Metode ekstraksi rimpang temu mangga

Metode ekstraksi rimpang temu mangga mengacu pada Mistriyani *et al.* [10]. Rimpang temu mangga dicuci, dikupas, diiris tipis-tipis, kemudian dilakukan pengeringan dengan oven (40°C) selama 1 hari, dan diserbukkan secara manual (dengan penumbukan) hingga diperoleh serbuk halus. Serbuk temu mangga selanjutnya dimaserasi secara bertingkat sebanyak 2 kali dengan metanol *p.a.* (1:10 *b/v*). Pada maserasi 1, sampel dicampur dengan 60% volume metanol yang digunakan selama 3 hari dan diaduk setiap hari, lalu solum disaring dan dimaserasi kembali menggunakan 40% volume metanol yang digunakan selama 3 hari dan diaduk setiap hari. Ekstrak dipisahkan secara konvensional dengan *waterbath evaporator* dan diperoleh ekstrak kental temu mangga untuk selanjutnya diuji kandungan flavonoid dan aktivitas antioksidannya.

2.4. Metode penentuan total kandungan flavonoid

Penentuan kandungan flavonoid total menggunakan metode AlCl_3 dengan mengacu pada Zou *et al* [11]. Sejumlah sampel dimasukkan ke dalam labu takar 10 mL, ditambahkan dengan 4 mL akuades dan 0,3 mL NaNO_2 10%. Setelah 5 menit, ditambahkan 0,3 mL AlCl_3 10% ke dalam labu takar dan didiamkan selama 5 menit. Selanjutnya dilakukan penambahan 4 mL NaOH 10% dan ditambahkan akuades hingga tanda tera 10 mL. Larutan digojog hingga homogen kemudian didiamkan di tempat gelap selama 22 menit (OT). Selanjutnya, absorbansi dibaca menggunakan

Spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum 510 nm. Digunakan rutin dengan seri konsentrasi 9,5 ; 19 ; 28,5 ; 38 ; 47,5 ; 57 ; dan 66,5 ppm sebagai standar kurva baku.

2.5. Metode penentuan aktivitas antioksidan dengan penangkapan radikal DPPH

Penentuan aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan metode penangkapan radikal DPPH yang mengacu pada Kikuzaki *et al.* [12]. Sejumlah sampel ditambahkan dengan 1 mL DPPH 0,4 mM dalam labu takar 5 mL dan ditambahkan dengan metanol hingga tanda tera. Campuran divortex dan didiamkan selama 30 menit (OT) pada suhu ruang di tempat gelap. Dibaca absorbansi dengan Spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum 515 nm. Larutan DPPH tanpa sampel digunakan sebagai kontrol.

2.6. Metode analisis

Penentuan total kandungan flavonoid dan aktivitas antioksidan dilakukan dengan 3 replikasi. Data dinyatakan dalam rata-rata \pm nilai simpangan baku (SD) menggunakan Microsoft Excel. Kemudian dilakukan analisis kemometrika PCA dan CA menggunakan software Minitab versi 19.1 dengan variabel berupa aktivitas antioksidan (IC50) dan total kandungan flavonoid (TFC) yang menghasilkan *score plot* yang digunakan untuk melihat kemiripan antar sampel, *loading plot* untuk mengevaluasi korelasi antarvariabel, serta dendogram yang digunakan untuk mengelompokkan sampel menjadi beberapa kelompok atau *cluster*. Selain itu, dilakukan analisis untuk mencari nilai koefisien korelasi (r) yang menyatakan hubungan antara total kandungan flavonoid dengan aktivitas antioksidannya dengan Microsoft Excel yang menghasilkan *scatter plot*.

Tabel 1. Data Asal Sampel dan Kode Sampel Temu Mangga (*Curcuma mangga* Val. & Zijp) yang Digunakan dalam Penelitian

Kode Sampel	Asal (Pasar)
TM01	Sentul, DIY
TM02	Beringharjo, DIY
TM03	Garum, Blitar
TM04	Sambi, Kediri
TM05	Kartasura, Sukoharjo
TM06	Tugurante, Blitar
TM07	Kranggan, DIY

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1. Preparasi sampel

Rimpang temu mangga yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari berbagai tempat seperti yang tercantum dalam Tabel 1. Pengambilan sampel dilakukan secara acak dari bulan Juni hingga November 2019 dan tidak memperhatikan berbagai faktor yang mempengaruhi aktivitasnya seperti umur tanaman, waktu panen, daerah asal yang tepat dikarenakan tujuan awal penelitian ini adalah untuk pemodelan korelasi antara aktivitas antioksidan dengan kandungan flavonoid, sehingga yang diperlukan adalah adanya variasi yang besar antarsampel sehingga dihasilkan pemodelan yang *robust*.

Rimpang temu mangga yang didapatkan memiliki ciri berwarna kuning seperti lemon dan berbau khas segar seperti mangga. Rimpang dibersihkan, diiris tipis, dan dioven pada suhu 40-50°C selama 1 hari untuk menghilangkan kandungan air dan mencegah adanya aktivitas mikroba sehingga sampel bisa disimpan lebih lama dan tidak mengalami kerusakan. Suhu pemanasan oven tidak boleh terlalu tinggi untuk mencegah risiko kerusakan senyawa aktif akibat pemanasan. Kemudian rimpang diserbukkan untuk mempermudah proses penarikan senyawa dalam tanaman dan dimaserasi dengan pelarut metanol sebanyak 2 kali untuk mencegah risiko adanya senyawa yang belum terekstraksi akibat pelarut mencapai titik jenuh. Pengadukan selama maserasi dilakukan setiap hari untuk mempermudah proses pemindahan zat aktif dan mempercepat proses kesetimbangan konsentrasi bahan ekstraksi. Selanjutnya, filtrat hasil maserasi dipisahkan untuk menghilangkan sisa pelarut dan didapatkan ekstrak metanolik kental. Ekstrak metanolik kental yang diperoleh berwarna coklat tua dan berbau khas. Rendemen ekstrak kental temu mangga yang didapatkan berkisar antara 3-7% seperti pada Tabel 2 dan dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Bobot ekstrak yang dihasilkan}}{\text{Bobot simplisia serbuk yang diekstraksi}} \times 100 \%$$

Tabel 2. Persen (%) Rendemen Ekstrak Kental Temu Mangga yang Dihasilkan

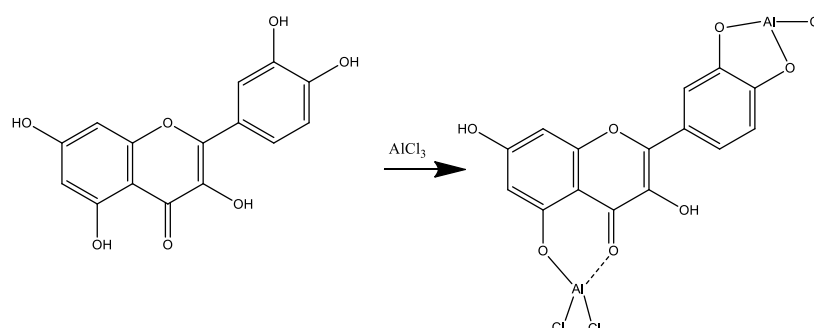
Kode Sampel	Bobot Serbuk Maserasi	Bobot Wadah + Ekstrak	Bobot Wadah	Bobot Ekstrak Kental	% Rendemen
TM01	150 gram	99,7 gram	89,8 gram	9,9 gram	6,6 %
TM02	150 gram	67,8 gram	61,6 gram	6,2 gram	4,13 %
TM03	150 gram	96,0 gram	88,1 gram	7,9 gram	5,27 %
TM04	150 gram	98,6 gram	88,3 gram	10,3 gram	6,87 %
TM05	150 gram	129,1 gram	123,5 gram	5,6 gram	3,73 %
TM06	150 gram	99,8 gram	88,5 gram	11,3 gram	7,53 %
TM07	150 gram	98,4 gram	89,9 gram	8,5 gram	5,67 %

Sebelum dilakukan uji kuantifikasi terhadap ekstrak kental temu mangga, terlebih dahulu dilakukan preparasi sampel untuk mendapatkan larutan stok sampel yang akan digunakan untuk uji flavonoid dan uji aktivitas antioksidan. Ditimbang kurang lebih 100 mg ekstrak kental temu mangga dan dilarutkan dengan metanol p.a. dalam labu takar 100 mL hingga diperoleh konsentrasi larutan stok temu mangga sebesar 1000 µg/mL (1 mg/mL). Larutan diultrasonikasi selama 2-3 menit hingga larut sempurna lalu disaring untuk selanjutnya diuji kandungan flavonoid dan aktivitas antioksidannya. Masing-masing sampel direplikasi sebanyak 3 kali.

3.2. Penentuan total kandungan flavonoid

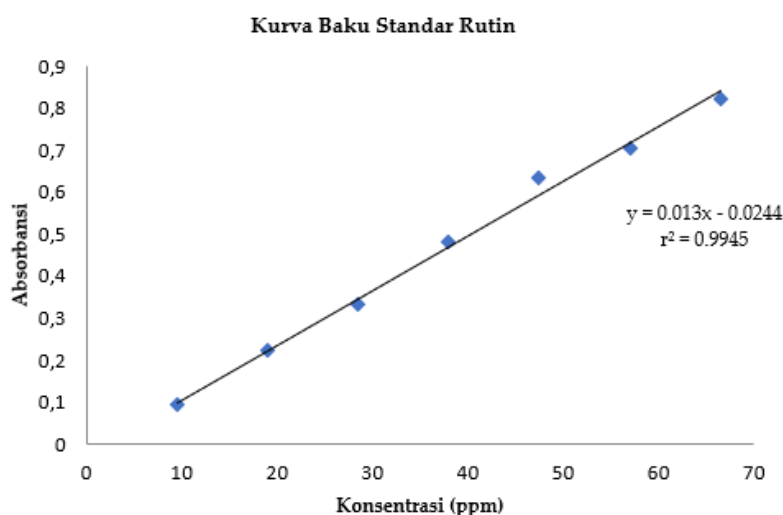
Penetapan total kandungan flavonoid diukur secara spektrofotometer UV-Vis menggunakan metode AlCl₃. Prinsip metode ini adalah terjadinya pembentukan kompleks antara aluminium klorida (AlCl₃) dengan senyawa flavon atau flavonol pada gugus keto atom C-4 dan gugus hidroksi pada atom C-3 atau C-5 yang bertetangga. AlCl₃ juga membentuk kompleks asam yang stabil dengan gugus *ortho-dihydroxyl* pada cincin A atau B flavonoid. Senyawa rutin digunakan sebagai standar pada penetapan kadar flavonoid ini karena rutin merupakan glikosida kuersetin yang tergolong dalam flavonol yang memiliki struktur cincin dan konfigurasi aglikon

dari kelompok hidroksil. Hal inilah yang membuat senyawa golongan flavonol memiliki kemampuan antioksidan yang ampuh [13]. Secara umum, reaksi yang terjadi antara senyawa flavonoid dengan pereaksi AlCl_3 sebagaimana dalam Gambar 1.



Gambar 1. Mekanisme Reaksi Senyawa Flavonoid dengan Pereaksi AlCl_3 [14]

Pada penelitian ini, didapatkan kurva baku hubungan antara konsentrasi standar rutin (sumbu x) dengan absorbansi rutin setelah direaksikan dengan AlCl_3 (sumbu y) dengan persamaan $y = 0,013x - 0,0244$ dan nilai koefisien determinasi (r^2) = 0,9945 seperti pada Gambar 2.



Total kandungan flavonoid ekstrak metanolik temu mangga yang didapatkan seperti yang tercantum pada Tabel 3 cukup bervariasi yang berkisar antara $70,450 \pm 2,036$ hingga $224,798 \pm 12,069$ mg ekuivalen rutin/g sampel. Dari data tersebut, terlihat bahwa sampel temu mangga TM06 dari Pasar Tugurante (Blitar) memiliki kandungan flavonoid tertinggi dan sampel temu mangga TM04 asal Pasar Sambu (Kediri) memiliki kandungan flavonoid terendah. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Sahu dan Saxena [16], kandungan flavonoid total ekstrak metanolik temu mangga adalah sebesar $22,52 \pm 0,015$ mg/g. Adanya perbedaan kandungan flavonoid ini dapat disebabkan oleh berbagai macam faktor dari ekstrak yang didapatkan seperti umur tanaman/rimpang yang digunakan, lokasi penanaman, waktu panen, penyimpanan bahan tumbuhan, kondisi geografis dan tanah, serta iklim dan cuaca. Selain itu, dapat juga disebabkan

karena perbedaan metode yang digunakan dalam mengekstraksi senyawa dan dalam menganalisis kandungan flavonoid dalam sampel.

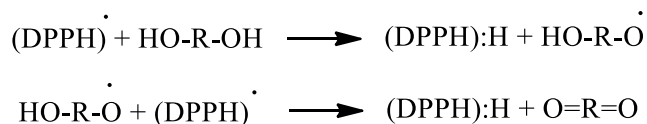
Tabel 3. Total Kandungan Flavonoid (TFC) Temu Mangga dengan Metode $AlCl_3$ dari Berbagai Pasar

Kode Sampel	Asal (Pasar)	TFC (mg RE/g)	TFC mean \pm SD (mg RE/g)
TM01	Sentul, DIY	142,283	169,686 \pm 25,443
		192,559	
		174,218	
TM02	Beringharjo, DIY	152,758	140,137 \pm 13,862
		142,352	
		125,300	
TM03	Garum, Blitar	178,209	189,452 \pm 27,545
		169,306	
		220,840	
TM04	Sambi, Kediri	70,494	70,450 \pm 2,036
		68,393	
		72,464	
TM05	Kartasura, Sukoharjo	153,172	121,683 \pm 37,269
		80,536	
		131,341	
TM06	Tugurante, Blitar	219,583	224,798 \pm 12,069
		216,214	
		238,597	
TM07	Kranggan, DIY	159,076	180,312 \pm 20,272
		182,402	
		199,459	

3.3. Penentuan aktivitas antioksidan

Penentuan aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode penangkapan radikal DPPH secara spektrofotometri UV-Vis. Aktivitas antioksidan dari suatu senyawa ditentukan dengan nilai IC_{50} (*Inhibition Concentration 50%*). Nilai IC_{50} menunjukkan konsentrasi senyawa uji yang dibutuhkan untuk mengurangi/meredam radikal DPPH sebesar 50%. Nilai IC_{50} diperoleh dari persamaan regresi linier yang menyatakan hubungan antara konsentrasi senyawa uji dengan nilai aktivitas antioksidan. Semakin kecil nilai IC_{50} senyawa uji, maka senyawa uji tersebut akan semakin poten sebagai antioksidan [17].

Metode uji menggunakan DPPH didasarkan pada penurunan absorbansi akibat perubahan warna larutan DPPH dari ungu pekat menjadi lebih tidak berwarna/kuning. Radikal DPPH yang memiliki elektron tidak berpasangan akan bereaksi dengan atom hidrogen dari senyawa peredam/penangkap radikal bebas membentuk DPPH-Hidrazin yang lebih stabil. Ketika elektron menjadi berpasangan oleh keberadaan senyawa penangkap radikal bebas, maka absorbansi akan menurun secara stokiometri sesuai dengan jumlah elektron yang diambil [18].



Gambar 3. Mekanisme Reaksi Senyawa Antioksidan dengan Radikal DPPH (1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil) [19]

Tabel 4. Aktivitas Antioksidan Temu Mangga dengan Metode Penangkapan Radikal Bebas DPPH dari berbagai Pasar

Kode Sampel	Asal (Pasar)	IC ₅₀ (µg/mL)	IC ₅₀ ± SD (µg/mL)
TM01	Sentul, DIY	172,7833	167,696 ± 6,6202
		160,2107	
		170,0927	
TM02	Beringharjo, DIY	205,0964	222,263 ± 15,919
		225,1549	
		236,539	
TM03	Garum, Blitar	42,375	40,581 ± 3,030
		42,287	
		37,083	
TM04	Sambi, Kediri	130,963	134,999 ± 9,336
		145,675	
		128,360	
TM05	Kartasura, Sukoharjo	240,143	268,802 ± 43,573
		318,945	
		247,318	
TM06	Tugurante, Blitar	35,651	37,338 ± 1,851
		39,318	
		37,046	
TM07	Kranggan, DIY	42,168	41,284 ± 0,827
		41,154	
		40,529	

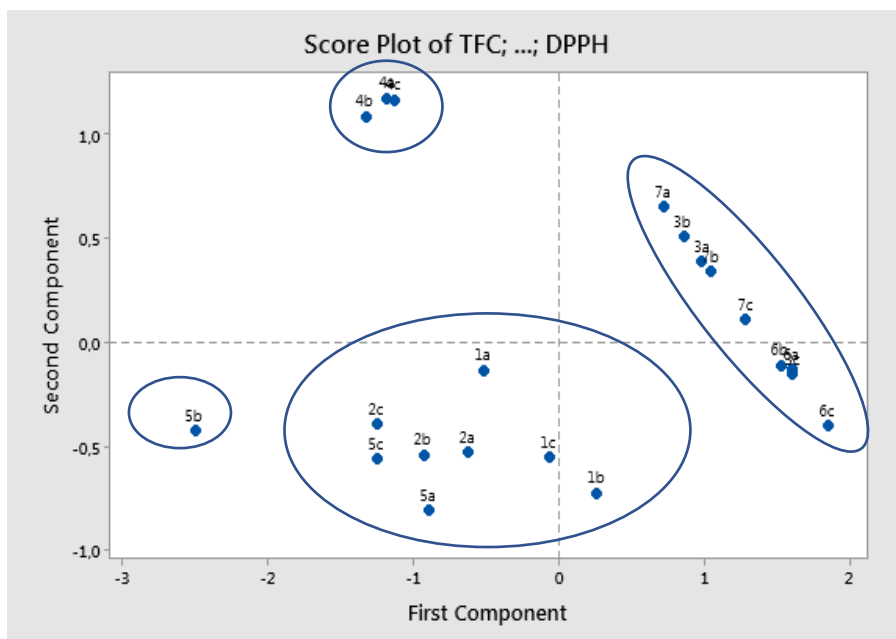
Menurut Molyneux [20], suatu ekstrak memiliki sifat antioksidan sangat kuat jika memiliki IC₅₀ < 50 µg/mL, kuat dengan IC₅₀ 50-100 µg/mL, sedang dengan IC₅₀ 100-150 µg/mL, lemah dengan IC₅₀ 150-200 µg/mL, dan sangat lemah dengan IC₅₀ > 200 µg/mL. Dari data yang didapatkan seperti pada Tabel 4, sampel temu mangga memiliki aktivitas antioksidan yang sangat bervariasi, dari sangat kuat hingga lemah dengan IC₅₀ berkisar antara 37,338 ± 1,851 hingga 268,802 ± 43,573 µg/mL yang menunjukkan bahwa dibutuhkan ekstrak metanolik temu mangga dengan kisaran konsentrasi tersebut untuk menghasilkan penurunan 50% dari aktivitas DPPH. Terlihat bahwa sampel temu mangga TM06 asal Pasar Tugurante (Blitar) memiliki aktivitas antioksidan tertinggi yang ditandai dengan nilai IC₅₀ terendah dan sampel temu mangga TM05 asal Pasar Kartasura (Sukoharjo) memiliki aktivitas antioksidan terendah yang ditandai dengan nilai IC₅₀ tertinggi.

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Jalip *et al.* [7], aktivitas penangkapan radikal dengan DPPH dari ekstrak metanolik *C. mangga* memiliki nilai IC50 sebesar 90,42 $\mu\text{g/mL}$. Adanya perbedaan nilai IC50 yang didapatkan dengan literatur disebabkan karena berbagai macam faktor dari ekstrak yang digunakan seperti metode ekstraksi, umur tanaman/rimpang yang digunakan, waktu panen, penyimpanan bahan tumbuhan, kondisi geografis dan tanah tempat tumbuh tanaman, serta iklim dan cuaca sehingga mempengaruhi aktivitas antioksidannya. Selain itu, mungkin dapat disebabkan karena proses pemekatan ekstrak dilakukan dengan metode konvensional yaitu pemanasan dengan *waterbath* sehingga senyawa fenolik dan flavonoid yang ada dalam tanaman temu mangga mengalami degradasi dan teroksidasi, akibatnya aktivitas antioksidan yang dihasilkan ada yang lebih rendah jika dibandingkan dengan literatur [21].

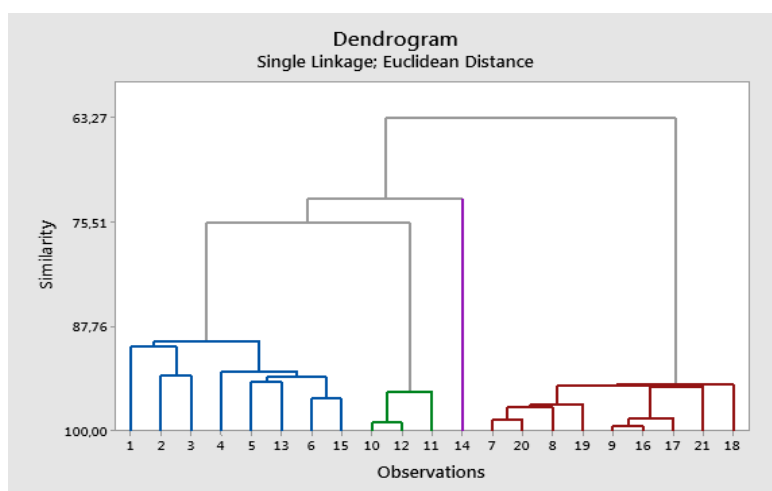
3.4. Analisis kemometrika

Pengelompokan ekstrak metanolik temu mangga dari berbagai tempat berdasarkan kandungan flavonoid dan aktivitas antioksidannya dilakukan dengan menggunakan kemometrika PCA dan CA, salah satu teknik *unsupervised pattern recognition*. Pada penelitian ini, variabel yang digunakan adalah aktivitas antioksidan (IC50) dan TFC (*Total Flavonoid Content*) dari setiap replikasi ekstrak metanolik temu mangga. PCA merupakan teknik reduksi data multivariat ketika antarvariabel saling berkorelasi. Sampel yang memiliki PC (Principle Component) hampir sama akan memiliki sifat fisika kimia yang hampir sama sehingga PCA dapat digunakan untuk pengelompokan [22]. *Eigenvalue* menunjukkan nilai kontribusi yang diberikan terhadap keragaman data. *Eigenvalue* yang diperoleh menunjukkan bahwa PC1 dan PC2 memberikan kontribusi sebesar 80,4% dan 19,6% terhadap variansi variabel. Pada penelitian ini digunakan PC1 yang sudah mewakili 80,4% variabel.

Score plot digunakan untuk mengelompokkan dan merepresentasikan kedekatan antarsampel yang dinyatakan oleh *First Principle Component* (PC1) yang menghitung variasi terbesar dari seluruh variabel dan *Second Principle Component* (PC2) yang menghitung variasi terbesar kedua dari seluruh variabel [23]. Berdasarkan *score plot* seperti pada Gambar 4, ekstrak metanolik temu mangga dapat dikelompokkan menjadi 4 kelompok. Semakin dekat nilai *score plot*, maka akan semakin mirip kandungan flavonoid dan aktivitas antioksidannya. Dari *score plot* terlihat bahwa ekstrak metanolik temu mangga 1a,b,c (TM01 : asal Pasar Sentul), 2a,b,c (TM02 : asal Pasar Beringharjo), dan 5a,c (TM05 : asal Pasar Kartasura) berada dalam 1 kelompok sehingga memiliki kandungan flavonoid dan aktivitas antioksidan yang mirip. Begitu pula dengan ekstrak metanolik temu mangga 4a,b,c (TM04 : asal Pasar Sambu) yang berada dalam 1 kelompok, serta ekstrak metanolik temu mangga 3a,b,c (TM03 : asal Pasar Garum), 6a,b,c (TM06 : asal Pasar Tugurante), dan 7a,b,c (TM07 : asal Pasar Kranggan) yang berada dalam 1 kelompok. Ekstrak metanolik temu mangga dari replikasi sampel yang sama seharusnya akan berada dalam 1 kelompok. Namun, ada pencilan pada ekstrak metanolik temu mangga 5b (asal Pasar Kartasura, replikasi kedua) yang menunjukkan bahwa sampel 5b berada cukup jauh dari 5a dan 5c. Hal ini mungkin dapat disebabkan karena terdapat kesalahan dalam proses pembuatan larutan stok sampel 5b.



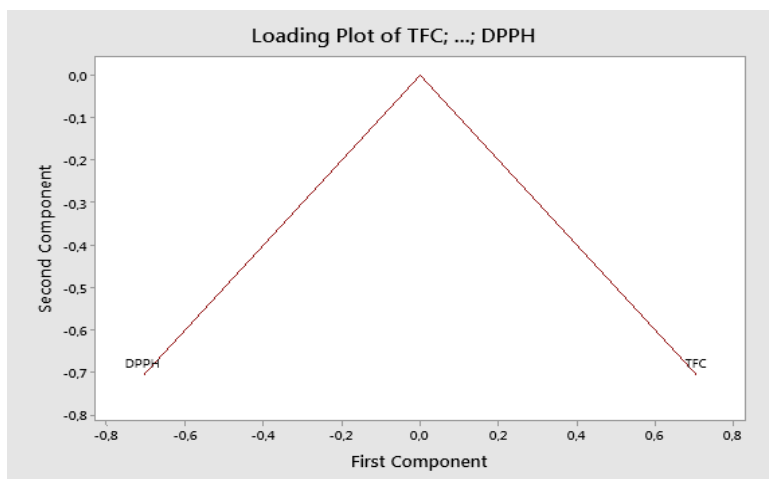
Gambar 4. Score Plot PCA oleh First Principle Component (PC1) dan Second Principle Component (PC2) dari Replikasi Sampel Ekstrak Metanolik Temu Mangga. 1 (TM01) : Pasar Sentul, 2 (TM02) : Pasar Beringharjo, 3 (TM03) : Pasar Garum, 4 (TM04) : Pasar Sambi, 5 (TM05) : Pasar Kartasura, 6 (TM06) : Pasar Tugurante, 7 (TM07) : Pasar Kranggan



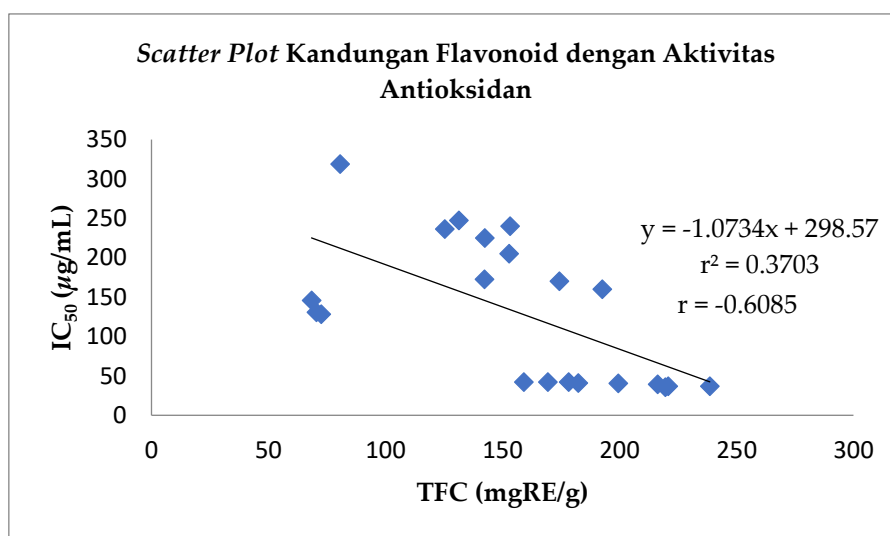
Gambar 5. Dendrogram CA berdasarkan Euclidean Distance dari Replikasi Ekstrak Metanolik Temu Mangga 1-3 (1a,b,c asal Pasar Sentul), 4-6 (2a,b,c asal Pasar Beringharjo), 7-9 (3a,b,c asal Pasar Garum), 10-12 (4a,b,c asal Pasar Sambi), 13-15 (5a,b,c asal Pasar Kartasura), 16-18 (6a,b,c asal Pasar Tugurante), dan 19-21 (7a,b,c asal Pasar Kranggan)

Cluster Analysis (CA) merupakan *unsupervised pattern recognition* yang digunakan untuk mencari sampel yang erat satu sama lain dalam ruang variabel dan membagi sampel ke dalam kelompok sehingga sampel yang sejenis akan berada dalam kelompok yang sama [22]. Dendrogram hasil *cluster analysis* menunjukkan bahwa semakin dekat jarak Euclidean-nya, maka

semakin tinggi tingkat kesamaannya dan sebaliknya. Berdasarkan dendrogram CA sebagaimana pada Gambar 5, didapatkan 4 kelompok dari 21 sampel. Kelompok 1 yaitu 1-3 (1a,b,c asal Pasar Sentul), 4-6 (2a,b,c asal Pasar Beringharjo), 13 (5a asal Pasar Kartasura), dan 15 (5c asal Pasar Kartasura). Kelompok 2 yaitu 10-12 (4a,b,c asal Pasar Sambu). Kelompok 3 yaitu 14 (5b asal Pasar Kartasura). Dan yang terakhir kelompok 4 yaitu 7-9 (3a,b,c asal Pasar Garum) dan 16-21 (6a,b,c asal Pasar Tugurante ; 7a,b,c asal Pasar Kranggan).



Gambar 6. Loading Plot PCA dengan Variabel Kandungan Flavonoid (TFC) dan Nilai IC50 dari Penangkapan Radikal DPPH Ekstrak Metanolik Temu Mangga



Gambar 7. Scatter Plot antara Kandungan Flavonoid (TFC) dan Nilai IC50 dari Penangkapan Radikal DPPH Ekstrak Metanolik Temu Mangga

Loading plot digunakan untuk memberikan evaluasi terhadap korelasi antarvariabel berdasarkan sudut yang dibentuk antara variabel-variabel yang digunakan. Jika dua vektor membentuk sudut kecil, kedua variabel berkorelasi positif. Jika dua vektor membentuk sudut sekitar 90°, kedua variabel tidak berkorelasi, dan jika dua vektor membentuk sudut yang lebar sekitar 180°, kedua variabel berkorelasi negatif [23]. Berdasarkan loading plot sebagaimana pada Gambar 6, kandungan flavonoid (TFC) tidak berkorelasi secara signifikan (korelasi sedang, tidak

terlalu rendah ataupun tinggi) terhadap aktivitas antioksidan karena memiliki sudut mendekati 90° yang didukung dengan nilai koefisien korelasi (r) pada *scatter plot* sebagaimana pada Gambar 7 dengan nilai $r = -0,6085$ dan $r^2 = 0,3703$, di mana kandungan flavonoid memberikan kontribusi sebesar 37,03% terhadap aktivitas antioksidan ekstrak metanolik temu mangga.

Profil pengelompokan temu mangga menggunakan PCA dan CA berhasil ditentukan. Hal ini dibuktikan dari hasil analisis CA yang ternyata mendukung hasil analisis PCA dan sama-sama menghasilkan 4 kelompok. Kelompok-kelompok yang terbentuk ini menunjukkan bahwa perbedaan tempat memang dapat memberikan pengaruh terhadap kandungan flavonoid dan aktivitas antioksidan dari suatu tanaman. Ekstrak metanolik temu mangga dari Pasar Sentul, Beringharjo, dan Kartasura memiliki kandungan flavonoid dan aktivitas antioksidan yang mirip. Begitu pula dengan ekstrak metanolik temu mangga dari Pasar Garum, Tugurante, dan Kranggan yang memiliki kandungan flavonoid dan aktivitas antioksidan yang mirip.

4. KESIMPULAN

Aktivitas antioksidan dan kandungan flavonoid temu mangga dari berbagai tempat di Jawa Tengah, Jawa Timur, dan DIY berhasil ditentukan. Ekstrak metanolik temu mangga memiliki aktivitas antioksidan yang bervariasi dari lemah hingga sangat kuat dengan kandungan flavonoid yang berkisar antara $70,450 \pm 2,036$ hingga $224,798 \pm 12,069$ mgRE/g sampel. Kandungan flavonoid ekstrak metanolik temu mangga memberikan korelasi yang sedang/tidak signifikan terhadap aktivitas antioksidannya dengan koefisien korelasi (r) = $-0,6085$ yang menunjukkan bahwa semakin tinggi kandungan flavonoidnya, maka semakin tinggi aktivitas antioksidannya, yang ditandai dengan semakin menurunnya nilai IC50. Profil pengelompokan ekstrak metanolik temu mangga berhasil ditentukan dengan PCA dan CA dan menghasilkan 4 kelompok berdasarkan kandungan flavonoid dan aktivitas antioksidannya.

Ucapan terima kasih : Penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Kementerian Riset dan Teknologi serta Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan yang telah membiayai penelitian ini melalui skema *World Class Research 2020*. Penulis juga mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada atas fasilitas laboratorium selama penelitian ini dilaksanakan.

Referensi

1. PT Sido Muncul. *Laporan Tahunan*. PT Sido Muncul Tbk ; Semarang, 2015, 76.
2. Sudewo, Bambang. *Tanaman Obat Populer: Penggempur Aneka Penyakit*. Agromedia Pustaka ; Jakarta, 2006.
3. *Hariana, Arief. Tumbuhan Obat dan Khasiatnya*. Penebar Swadaya ; Jakarta, 2006.
4. Menkes RI. *Formularium Obat Herbal Asli Indonesia*. Menkes RI ; Jakarta, 2016, 110, 152.
5. Yuslianti, E. R. *Pengantar Radikal Bebas dan Antioksidan*. Penerbit Deepublish ; Yogyakarta, 2018, 76-85.
6. Pujumulyani, D.; Yulianto, W.A.; Setyowati, A.; Arumwardana, S.; Rizal, R. Antidiabetic and Antioxidant Potential of *Curcuma mangga* Val. Extract and Fractions. *Asian Journal of Agriculture and Biology*. **2018**, 6, 2, 162–168.
7. Jalip, I.S.; Suprihatin; Wiryanti, I.; Sinaga, E. Antioxidant Activity and Total Flavonoids Content of *Curcuma* Rhizome Extract. The 4th Green Technology Faculty of Science and Technology, Islamic of University State Maulana Malik Ibrahim Malang. **2013**, 93–99.
8. Kusmiyati, K.; Aznam, N.; Handayani, S. Isolasi dan Identifikasi Zat Aktif Ekstrak Metanol Rimpang Kunyit Putih (*Curcuma mangga* Val.) Fraksi Etil Asetat. *Pharmaciana*. **2011**, 1, 2, 1-10.

9. Katuuk, R.H.H.; Wanget, S.A.; Tumewu, P. Pengaruh Perbedaan Ketinggian Tempat Terhadap Kandungan Metabolit Sekunder Pada Gulma Babadotan (*Ageratum Conyzoides* L.). E-Journal Universitas Sam Ratulangi Manado. **2019**, *1*, 4.
10. Mistriyani; Riyanto, S.; Rohman, A. Antioxidant Activities of Rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) Peel In Vitro. Food Research. **2018**, *2*, 1, 119–123.
11. Zou, Y.; Lu, Y.; Wei, D. Antioxidant activity of a flavonoid-rich extract of *Hypericum perforatum* L. in vitro. Journal of Agricultural and Food Chemistry. **2004**, *52*, 16, 5032–5039.
12. Kikuzaki, H.; Hisamoto, M.; Hirose, K.; Akiyama, K.; Taniguchi, H. Antioxidant Properties of Ferulic Acid and Its Related Compounds. Journal of Agricultural and Food Chemistry. **2002**, *50*, 7, 2161–2168.
13. Arifin, B.; Ibrahim, S. Struktur, Bioaktivitas, dan Antioksidan Flavonoid. Jurnal Zarah. **2018**, *6*, 1, 21–29.
14. Markham, K.R. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. Penerbit ITB ; Bandung, 1988, 1-117, cit. Pine, A. T. D.; Alam, G.; Attamin, F. Standardisasi Mutu Ekstrak Daun Gedi (*Abelmoschus manihot* (L.) Medik) dan Uji Efek Antioksidan dengan Metode DPPH. Jurnal Farmasi UIN Alauddin Makassar. **2017**, *3*, 3.
15. Pekal, A.; Pyrzynska, K. Evaluation of Aluminium Complexation Reaction for Flavonoid Content Assay. Food Analytical Methods. **2014**, *7*, 9, 1776–1782.
16. Sahu, R.; Saxena, J. Screening of Total Phenolic and Flavonoid Content in Conventional and Non Conventional Species of Curcuma. International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research. **2013**, *21*, 2, 24–26.
17. Othman, A.; Ismail, A.; Abdul Ghani, N.; Adenan, I. Antioxidant Capacity and Phenolic Content of Cocoa Beans. Food Chemistry. **2007**, *100*, 4, 1523–1530.
18. Almoulah, N.; Voynikov, Y.; Gevrenova, R.; Schohn, H.; Tzanova, T.; Yagi, S.; Thomas, J.; Mignard, B.; Ahmed, A.A.A.; El Siddig, M.A.; Spina, R.; Laurain-Mattar, D. Antibacterial, antiproliferative and antioxidant activity of leaf extracts of selected Solanaceae species. South African Journal of Botany. **2017**, *112*, 368–374.
19. Shahidi, Fereidoon. *Natural Antioxidants Chemistry, Health Effects, and Application*. Memorial University of Newfoundland St.John's ; Canada, 1997.
20. Molyneux, P. The Use Of The Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. Journal of Science Technology. **2004**, *26*, 2, 211-219.
21. Pujihartati, V.L.; Raharjo, S.; Santosa, U. Stabilitas Antioksidan Ekstrak Kunyit (*Curcuma domestica*) selama Penyimpanan Umbi dan Pemanasan. Prosiding Seminar Nasional PATPI, Yogyakarta. 1999.
22. Rohman, A.; Sujadi. *Analisis Derivat Babi*. Gajah Mada University Press ; Yogyakarta, 2018, 28.
23. Widodo, H.; Sismindari, S.; Asmara, W.; Rohman, A. Antioxidant activity, total phenolic and flavonoid contents of selected medicinal plants used for liver diseases and its classification with chemometrics. Journal of Applied Pharmaceutical Science. **2019**, *9*, 6, 99–105.

