

Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Daun Pecah Beling (*Strobilanthes crispus*)

Arniah Dali*, Haeruddin, Wa Ode Yusmita Miranda, Nasriadi Dali
Jurusan Pendidikan Kimia, FKIP, Universitas Halu Oleo
email: arniahdali64@gmail.com

Abstract: *The antioxidant activity test of methanol extracts of the leaves nasty shard Strobilanthes crispus has been done. This study aims to test the phytochemical and antioxidant activity of methanol extracts of the leaves nasty shard Strobilanthes crispus. The leaves nasty shard are macerated with methanol for 3x24 hours. Further methanol extract was tested phytochemically and antioxidant activity by DPPH method (1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazil). The result of phytochemical test showed that the methanol extract of the leaves nasty shard Strobilanthes crispus contain secondary metabolites of alkaloids, flavonoids, and saponins. The result of antioxidant activity test showed that the methanol extract of the leaves nasty shard Strobilanthes crispus have antioxidant activity with IC₅₀ of 100,363 ppm.*

Keywords: *antioxidant, DPPH method, leaves nasty shard Strobilanthes crispus, phytochemicals, secondary metabolites, antioxidant*

1. PENDAHULUAN

Antioksidan adalah zat kimia yang dapat menghambat dan mencegah terjadinya reaksi radikal bebas. Radikal bebas adalah spesies yang mengandung satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan pada orbital terluarnya. Radikal bebas adalah sangat reaktif dan tidak stabil. Radikal bebas akan bereaksi dengan atom atau molekul netral di sekitarnya untuk mencapai kestabilan. Radikal bebas diproduksi secara terus-menerus oleh tubuh manusia sebagai akibat dari proses metabolisme. Radikal bebas yang terdapat dalam tubuh manusia adalah hidroksil, anion superoksida, asam hipoklorat, oksigen tunggal, dan peroksil (Anonim, 2011). Reaksi radikal bebas akan berlangsung secara berantai, sehingga reaksi ini dapat merusak struktur sel di dalam tubuh. Bila reaksi radikal bebas ini tidak dihentikan akan menimbulkan berbagai macam penyakit kronis, seperti tumor, kanker, jantung koroner, katarak, penuaan dini, dan penyakit degeneratif lainnya (Anonim, 2007).

Salah satu senyawa kimia yang dapat menghambat terjadinya reaksi radikal bebas adalah antioksidan (Halliwell & Gutteridge, 2000). Antioksidan dapat mengubah sel-sel tubuh menjadi pengaman untuk melawan radikal bebas. Antioksidan dapat menghambat reaksi radikal bebas melalui dua jalur mekanisme, yaitu jalur primer dan sekunder. Mekanisme jalur primer adalah melibatkan penangkapan radikal bebas. Sedangkan mekanisme jalur sekunder adalah tidak

melibatkan penangkapan radikal bebas, tetapi melalui pengikatan logam dan penyerapan sinar ultraviolet (Pokorny, 2007).

Senyawa-senyawa yang berpotensi sebagai antioksidan adalah flavonoid, fenolik, dan alkaloid (Juniarti, Osmeli & , 2009). Senyawa-senyawa antioksidan ini tersebar di berbagai bagian tanaman, seperti pada kayu, kulit kayu, akar, daun, buah, biji, dan serbuk sari (Herman dan Rahardjo, 2006). Salah satu tanaman yang berpotensi sebagai antioksidan adalah tanaman pecah beling *Strobilanthes crispus*. Tanaman pecah beling adalah termasuk salah satu jenis tanaman obat keluarga (TOGA). Daun pecah beling dapat digunakan sebagai obat gatal, diare, batu ginjal, penurun kolesterol, dan antikanker (Srisadono, 2008). Penggunaan daun pecah beling sebagai bahan baku obat tradisional sampai saat ini masih terbatas pada resep turun-temurun. Oleh karena itu, peneliti masih perlu melakukan kajian untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder daun pecah beling dan khasiatnya sebagai sumber antioksidan alami.

2. METODE PENELITIAN

Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah neraca analitik (Ohaus), blender (Miyako), gunting, gelas kimia, Erlenmeyer, gelas ukur, pipet ukur, pipet tetes, pipet volume, labu takar, corong gelas, batang pengaduk, toples, tabung reaksi, rak tabung, kaca arloji, penangas air, *vacuum rotary evaporator*, dan spektrofotometer UV-Vis.

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun keji beling *Strobilanthes crispus*, pelarut etanol p.a. (Merck), metanol teknis, aquabidest, kloroform (Merck), asam asetat anhidrat (Merck), eter (Merck), larutan H₂SO₄ 2N, HCl 2N, NaOH, FeCl₃ 10%, Na₂CO₃ 5%, NaCl 10%, gelatin 10%, DPPH (Sigma-Aldrich), vitamin C, serbuk Mg (Merck), serbuk Zn (Merck), aluminium foil, tisu, kertas saring, pereaksi Dragendorf, Mayer, Wagner, dan Liebermann-Burchard.

Prosedur Kerja

Ekstraksi sampel

Serbuk daun keji beling *Strobilanthes crispus* sebanyak 250 g dimasukkan ke dalam toples. Selanjutnya sebanyak 1 L metanol ditambahkan ke dalam toples lalu ditutup dengan aluminium foil. Serbuk daun keji beling dibiarkan terendam dalam pelarut metanol selama 24 jam. Campuran ini diaduk dan dikocok setiap 8 jam agar simplisia terekstraksi sempurna. Setelah 24 jam maserat dikeluarkan dari dalam toples lalu disaring. Filtrat diambil dan residu direndam kembali dalam 1 L metanol selama 24 jam. Prosedur ini diulang sampai warna filtrat menjadi bening. Selanjutnya filtrat dipekatkan dengan *vacuum rotary evaporator* pada suhu 40°C sampai terbentuk ekstrak kental (*crude*) (Anonim, 2000).

Uji fitokimia

Uji alkaloid

Sebanyak 0,1 g ekstrak metanol dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Ekstrak metanol ini dilarutkan dengan 9 mL *aquabidest* dan 1 mL HCl 2N (9:1) v/v. Larutan ini dipanaskan di atas penangas air selama 2 menit lalu didinginkan. Selanjutnya larutan disaring dan filtratnya diambil sebagai larutan uji. Sebanyak 1 mL larutan uji dipindahkan ke kaca arloji, kemudian ditambahkan 2 tetes pereaksi Wagner. Hasil positif ditunjukkan oleh adanya endapan coklat hitam. Sebanyak 1 mL larutan uji dipindahkan ke kaca arloji, kemudian ditambahkan 2 tetes pereaksi Mayer. Hasil positif ditunjukkan oleh adanya endapan putih atau kuning yang larut dalam metanol. Sebanyak 1 mL larutan uji dipindahkan ke kaca arloji, kemudian ditambahkan 2 tetes pereaksi Dragendorf. Hasil positif ditunjukkan oleh adanya endapan coklat kemerahan (jingga) (Anonim, 2000).

Uji saponin

Sebanyak 0,1 g ekstrak metanol dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Ekstrak metanol ini dilarutkan dengan 10 mL *aquabidest* panas lalu didinginkan. Selanjutnya larutan dikocok kuat-kuat selama 10 detik. Hasil positif ditunjukkan oleh terbentuknya buih setinggi 1-10 cm yang stabil selama ± 10 menit dan pada penambahan 1 tetes HCl 2N buih tidak hilang (Anonim, 2000).

Uji terpen dan steroid

Sebanyak 0,1 g ekstrak metanol dilarutkan dengan 10 mL eter. Ekstrak eter ditambahkan 3 tetes pereaksi Liebermann-Burchard. Terbentuknya warna biru-hijau menunjukkan adanya steroid dan warna ungu menunjukkan adanya terpen (Anonim, 2000).

Uji tanin dan polifenol

Sebanyak 0,1 g ekstrak metanol dilarutkan dengan 5 mL *aquabidest* panas sambil diaduk. Setelah dingin larutan disentrifugasi, bagian cairan dipisahkan lalu ditetesi larutan NaCl 10% kemudian disaring dan filtratnya diambil sebagai larutan uji. Sebanyak 1 mL larutan uji ditambahkan 3 tetes larutan gelatin 10%. Hasil positif ditunjukkan oleh adanya endapan putih. Sebanyak 1 mL larutan uji ditambahkan 3 tetes larutan FeCl₃ 10%. Hasil positif ditunjukkan oleh terbentuknya warna hijau violet. Sebanyak 1 mL larutan uji ditambahkan 3 tetes larutan gelatin-NaCl 10%. Hasil positif ditunjukkan oleh adanya endapan putih (Anonim, 2000).

Uji flavonoid

Sebanyak 0,1 g ekstrak metanol dilarutkan dengan 5 mL etanol 95%. Sebanyak 2 mL larutan uji dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Kemudian ke dalam tabung reaksi ditambahkan 0,5 g serbuk Zn dan 2 mL HCl 2N lalu didiamkan selama 1 menit. Selanjutnya ke dalam larutan ini ditambahkan 10 tetes HCl pekat sambil dikocok secara perlahan lalu didiamkan selama 2-5 menit. Hasil positif ditandai oleh terbentuknya warna merah terang. Sebanyak 2 mL larutan uji

dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Kemudian ke dalam tabung reaksi ditambahkan 0,5 g serbuk Mg dan 2 mL HCl 2N lalu didiamkan selama 1 menit. Selanjutnya ke dalam larutan ini ditambahkan 10 tetes HCl pekat sambil dikocok secara perlahan lalu didiamkan selama 2-5 menit. Terbentuknya warna merah jingga hingga merah ungu menunjukkan adanya flavonoid. Sedangkan jika warna kuning jingga yang terbentuk menunjukkan adanya flavon, kalkon, dan auron (Anonim, 2000).

Uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH

Pembuatan larutan induk DPPH 1 mM

Sebanyak 39,43 mg serbuk DPPH dilarutkan dalam 100 mL etanol p.a. kemudian larutan dikocok sampai homogen (Mailandari, 2012).

Penentuan panjang gelombang maksimum larutan induk DPPH 1 mM

Sebanyak 4,0 mL larutan DPPH 1 mM diukur absorbansinya pada panjang gelombang 400-600 nm untuk mendapatkan absorbansi $\pm 0,2-0,8$ dengan spektrofotometer UV-Vis (Mailandari, 2012).

Pembuatan larutan blanko DPPH 1 mM

Sebanyak 1 mL larutan DPPH 1 mM ditambahkan 1 mL etanol p.a. kemudian larutan dikocok sampai homogen. Selanjutnya larutan diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C. Absorbansi larutan blanko diukur pada panjang gelombang maksimum DPPH 1 mM yang telah diperoleh sebelumnya, yaitu 517 nm (Mailandari, 2012).

Pembuatan larutan induk sampel 100 $\mu\text{g/mL}$

Sebanyak 10 mg ekstrak metanol dilarutkan dalam 10 mL etanol p.a. kemudian larutan dikocok sampai homogen (Mailandari, 2012).

Pembuatan larutan seri sampel 5, 25, 50, 75, dan 100 $\mu\text{g/mL}$

Sebanyak 0,5, 2,5, 5,0, 7,5, dan 10,0 mL larutan induk sampel dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL lalu ditambahkan etanol p.a. sampai tanda garis, kemudian larutan dikocok sampai homogen (Mailandari, 2012).

Pembuatan larutan induk pembanding vitamin C 100 $\mu\text{g/mL}$

Sebanyak 10 mg vitamin C dilarutkan dalam 10 mL etanol p.a. kemudian larutan dikocok sampai homogen (Mailandari, 2012).

Pembuatan larutan seri pembanding vitamin C 5, 25, 50, 75, dan 100 $\mu\text{g/mL}$

Sebanyak 0,5, 2,5, 5,0, 7,5, dan 10,0 mL larutan induk vitamin C dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL lalu ditambahkan etanol p.a. sampai tanda garis, kemudian larutan dikocok sampai homogen (Mailandari, 2012).

Pengujian aktivitas antioksidan ekstrak metanol dengan metode DPPH

Larutan seri sampel dan larutan seri pembanding vitamin C masing-masing dipipet sebanyak 1,0 mL lalu ditambahkan 2 mL etanol p.a. dan 1,0 mL DPPH 1 mM, kemudian larutan dikocok sampai homogen. Selanjutnya larutan diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C. Absorbansi larutan masing-masing diukur pada panjang gelombang maksimum DPPH 1 mM yang telah diperoleh sebelumnya, yaitu 517 nm (Mailandari, 2012).

Perhitungan nilai IC₅₀

Aktivitas antioksidan dinyatakan dengan *Inhibition Concentration 50%* (IC₅₀), yaitu konsentrasi sampel yang dapat meredam radikal DPPH sebanyak 50%. Nilai IC₅₀ dihitung dengan rumus:

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{[A \text{ blanko (DPPH)}] - [A \text{ sampel (Ekstrak MeOH) atau (Vit. C)}]}{[A \text{ blanko (DPPH)}]} \times 100\%$$

di mana A = absorbansi.

Harga persentase inhibisi diplotkan dalam sebuah grafik. Dari grafik tersebut diperoleh persamaan garis regresi linear $y = a + bx$, di mana y = persentase inhibisi (%), a = kemiringan (*slope*), b = gradien, dan x = konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$). Selanjutnya nilai IC₅₀ diperoleh dari nilai x setelah mengganti nilai y = 50 (Valentao, *et.al.*, 2001).

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil uji fitokimia ekstrak metanol daun pecah beling *Strobilanthes crispus*

Hasil uji fitokimia ekstrak metanol daun pecah beling *Strobilanthes crispus* disajikan pada Tabel 1. Dari Tabel 1 tampak bahwa senyawa metabolit sekunder yang positif terkandung dalam ekstrak metanol adalah alkaloid, saponin, dan flavonoid.

Hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak metanol daun pecah beling *Strobilanthes crispus* dengan metode DPPH

Hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak metanol daun pecah beling *Strobilanthes crispus* dengan metode DPPH disajikan pada Tabel 2. Dari Tabel 2 tampak bahwa semakin tinggi konsentrasi sampel uji semakin tinggi pula persentase penghambatan radikal bebas DPPH. Hal ini berarti semakin tinggi konsentrasi sampel uji semakin banyak pula senyawa antioksidan yang bereaksi dengan radikal bebas DPPH. Sebaliknya semakin tinggi konsentrasi sampel uji semakin rendah nilai absorbansi. Hal ini disebabkan karena intensitas warna ungu tua dari radikal bebas

DPPH berkurang dan berubah menjadi warna kuning dari DPPH netral pada panjang gelombang maksimal (517 nm). Fenomena ini juga tampak pada nilai absorbansi dan persentase penghambatan radikal bebas DPPH dari vitamin C sebagai pembanding. Namun demikian, nilai absorbansi dari ekstrak metanol > vitamin C dan persentase penghambatan radikal bebas DPPH dari ekstrak metanol < vitamin C. Hal ini disebabkan karena vitamin C adalah senyawa yang relatif lebih murni daripada ekstrak metanol daun pecah beling *Strobilanthes crispus*.

Tabel 1. Hasil uji fitokimia ekstrak metanol daun pecah beling

Senyawa Metabolit Sekunder	Pereaksi	Pengamatan	Hasil
Alkaloid	Wagner	Terbentuk endapan coklat hitam	+
	Mayer	Terbentuk endapan putih	+
	Dragendorf	Terbentuk endapan coklat kemerahan	+
Saponin	Air panas	Terbentuk buih yang stabil	+
	HCl 2N	Buih tidak hilang	+
Terpen	LB	Tidak terbentuk warna ungu	-
Steroid	LB	Tidak terbentuk warna biru-hijau	-
Tanin	Gelatin 10%	Tidak terbentuk endapan putih	-
	FeCl ₃ 10%	Tidak terbentuk warna hijau violet	-
Polifenol	Serbuk Zn + HCl 2N + HCl p	Terbentuk warna merah terang	+
	Serbuk Mg + HCl 2N + HCl p	Terbentuk warna merah ungu	+

Tabel 2. Hasil Hasil pengukuran absorbansi dan perhitungan persentase penghambatan radikal bebas DPPH oleh ekstrak metanol daun pecah beling *Strobilanthes crispus* dan vitamin C

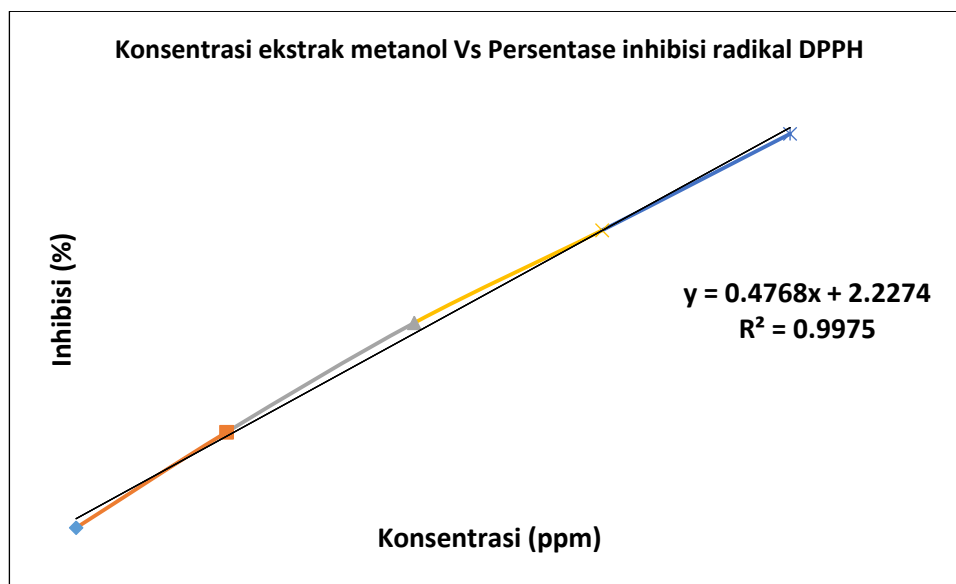
Konsentrasi (ppm)	Absorbansi		% Hambatan Radikal Bebas DPPH	
	Ekstrak Metanol	Vitamin C	Ekstrak Metanol	Vitamin C
5	0,837	0,440	3,57	49,31
25	0,741	0,331	14,63	61,87
50	0,631	0,239	27,30	72,47
75	0,538	0,143	38,02	83,53
100	0,441	0,050	49,19	94,24

Catatan: Absorbansi blanko = 0,868

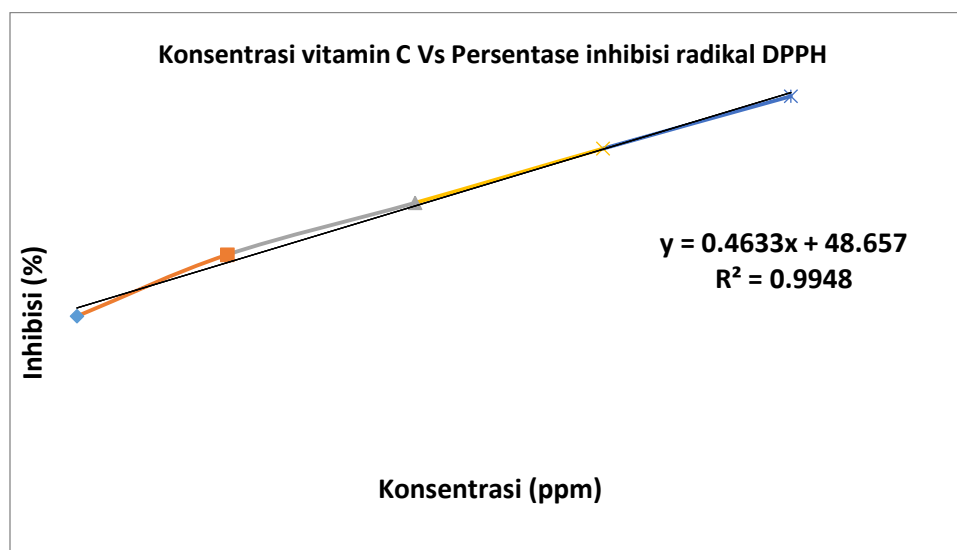
Hasil perhitungan nilai IC_{50}

Kurva hubungan antara konsentrasi ekstrak metanol dan vitamin C yang ditambahkan pada DPPH dengan persentase penghambatan radikal bebas DPPH ditunjukkan pada Gambar 1 dan 2. Dari Gambar 1 diperoleh persamaan garis regresi linier $y = 0,476x + 2,227$. Jika nilai $y = 50$, diperoleh nilai $x = 100,363$ ppm. Sedangkan dari Gambar 2 diperoleh persamaan garis regresi linier $y = 0,463x + 48,65$. Jika nilai $y = 50$, diperoleh nilai $x = 2,916$ ppm. Jadi, nilai IC_{50} dari ekstrak metanol (100,363 ppm) lebih besar dari IC_{50} vitamin C (2,916 ppm).

IC_{50} merupakan nilai yang menunjukkan kemampuan penghambatan proses oksidasi sebesar 50% suatu konsentrasi sampel (ppm). Nilai IC_{50} yang semakin kecil menunjukkan semakin tingginya aktivitas antioksidan. Suatu senyawa dikatakan memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat jika nilai $IC_{50} < 50$ ppm, kuat ($50 < IC_{50} < 100$ ppm), sedang ($100 < IC_{50} < 150$ ppm), dan lemah ($150 < IC_{50} < 200$ ppm) (Molyneux, 2004). Oleh karena itu, aktivitas antioksidan ekstrak metanol adalah termasuk kuat dan aktivitas antioksidan vitamin C adalah sangat kuat.

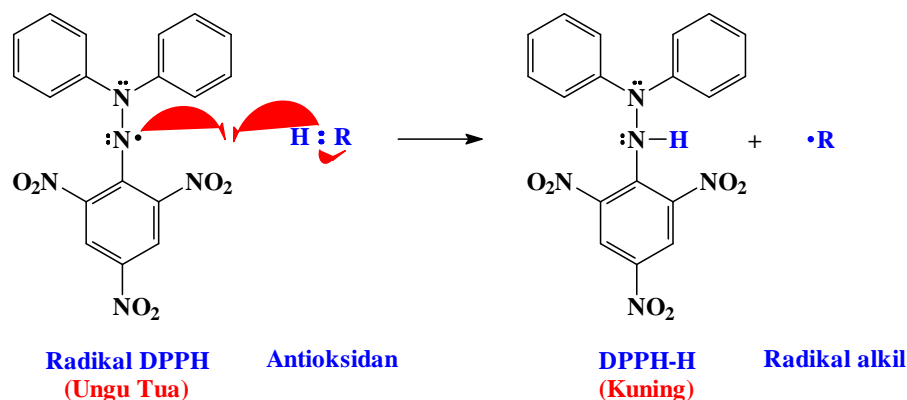


Gambar 1. Kurva hubungan antara konsentrasi ekstrak metanol yang ditambahkan pada DPPH dengan persentase penghambatan radikal bebas DPPH



Gambar 2. Kurva hubungan antara konsentrasi vitamin C yang ditambahkan pada DPPH dengan persentase penghambatan radikal bebas DPPH

Aktivitas antioksidan suatu senyawa diukur dari kemampuannya dalam menangkap radikal bebas. Dari hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak metanol adalah cukup kuat ($IC_{50} = 100,363$ ppm) dalam menghambat reaksi radikal bebas DPPH. Dalam reaksi ini, DPPH berperan sebagai radikal bebas yang bereaksi dengan antioksidan ekstrak metanol, sehingga radikal DPPH akan berubah menjadi 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazin (Gambar 3). Reaksi ini menyebabkan terjadinya perubahan warna dari ungu tua menjadi kuning pada panjang gelombang maksimal (517 nm) (Nur, Bristi & Rafiquzzaman, 2013).



Gambar 3. Reaksi penangkapan radikal DPPH oleh antioksidan (Molyneux, 2004)

4. PENUTUP

Kesimpulan

Senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak metanol daun pecah beling *Strobilanthes crispus* adalah alkaloid, saponin, dan flavonoid. Ekstrak metanol daun pecah beling *Strobilanthes crispus* memiliki aktivitas antioksidan yang kuat dengan IC₅₀ 100,363 ppm.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. (2000). *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Anonim. (2011). *Khasiat Fantastis Kulit Manggis*. Grasindo, Jakarta.
- Halliwell, B. & Gutteridge, J. M. C. (2000). *Free Radical in Biology and Medicine*. 3th ed. New York, Oxford University Press Inc.
- Herman & Rahardjo, M. (2006). *Tanaman Berkhasiat Antioksidan*. Jakarta, Penebar Swadaya.
- Juniarti, Osmeli, D., & Yuhernita. (2009). Kandungan senyawa kimia, uji toksisitas (BSLT) dan antioksidan (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) dari ekstrak daun saga. *Makara Sains*, 13(2): 50-54.
- Mailandari, M. (2012). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun *Garcinia kydia* Roxb dengan Metode DPPH dan Identifikasi Senyawa Kimia Fraksi yang Aktif. *Skripsi*. FMIPA Universitas Indonesia, Jakarta.
- Molyneux, P. (2004). The use of the stable free radical diphenyl picrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *J. Sci. Techn.* 26(2): 211-219.
- Nur, M. A., Bristi, N. J. & Rafiquzzaman. (2013). Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity. *J. Saudi Pharmaceutical*. 21(1): 143-152.
- Pokorny, J. (2007). The natural antioxidants better and safer than synthetic antioxidants. *Eur. J. Lipid Sci. Tech.*, 109(2): 629-642.
- Srisadono, A. (2008). Skrining Awal Ekstrak Etanol Daun Sirih Piper Betle Linn sebagai Antikanker dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *Skripsi*. Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, Semarang.
- Valentao, P., Fernandens, E., Carvalho, F., Andrade, P. B., Seabra, R. M., & Bastos, M. L. (2001). Antioxidant activity of centaurium erythraea infusion evidenced by its superoxide radical scavenging and xanthine oxidase inhibitory activity. *J. Agric. Food Chem.*, 49(1): 3476-3479.