



Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat Daun Sembukan (*Paederia foetida* L.) dengan Menggunakan Pereaksi DPPH

Haeria Doloking^{1*}, Mantur Yudokus², Nur Aeti¹

¹Jurusan Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Alauddin Makassar
Jl. Sultan Alauddin No.63, Romangpolong, Kec. Somba Opu, Kabupaten Gowa, Sulawesi Selatan 92113

²Program Studi Farmasi, Universitas Pancasakti Makassar
Jl. Andi Mangerangi No. 73 Kel. Mamajang, Kec. Tamalate, Kota Makassar Sulawesi Selatan, 90121

Article Info:

Submitted: 3 November 2024

Revised: 2 Desember 2024

Accepted: 21 Desember 2024

*Corresponding author e-mail:

riadoloking@gmail.com

Cite this article: Haeria Doloking, Mantur Yudokus, Nur Aeti. 2024. Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat Daun Sembukan (*Paederia foetida* L.) dengan Menggunakan Pereaksi DPPH. Jurnal Farmasi 12(2): 26-37

Copyright:

This is an open-access article distributed under the terms of the CC BY-SA 4.0 license.

ABSTRACT

Background: Sembukan (*Paederia foetida* L.) is one of the native plants of Indonesia, particularly in East Nusa Tenggara (NTT), that can be utilized as a source of antioxidant compounds. Antioxidants are compounds that can absorb or neutralize free radicals, thereby preventing degenerative diseases such as cardiovascular disorders, carcinogenesis, and other diseases. **Objective:** This study aims to determine the flavonoid and phenolic contents and analyse the IC_{50} value and antioxidant activity of the ethyl acetate fraction of Sembukan leaves using the DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl) scavenging method. This research was conducted using the maceration method with 70% ethanol as the solvent. The ethanol extract was fractionated using ether and ethyl acetate. **Methods.** The DPPH method was measured using UV-Visible spectrophotometry at a wavelength of 522 nm, with vitamin C as a reference. **Results:** The analysis results showed that the ethanol extract of Sembukan leaves (*Paederia foetida* L.) positively contains flavonoid and phenolic compounds. The ethyl acetate fraction exhibited antioxidant activity and contained flavonoid and phenolic compounds. The antioxidant activity of the ethyl acetate fraction had an IC_{50} value of 22.148 ppm, while ascorbic acid (vitamin C) as the reference had an IC_{50} value of 5.389 ppm. **Conclusions,** the ethyl acetate fraction is classified as having very strong antioxidant activity

KEYWORDS: *Paederia foetida* L., fractions, antioxidants, DPPH

PENDAHULUAN

Tanaman obat atau dikenal dengan nama biofarmaka adalah jenis-jenis tanaman yang memiliki fungsi dan berkhasiat sebagai obat dan dipergunakan untuk penyembuhan atau pun mencegah berbagai penyakit. Berkhasiat obat sendiri mempunyai arti mengandung zat aktif yang bisa mengobati penyakit tertentu atau jika tidak memiliki kandungan zat aktif tertentu tapi memiliki kandungan efek resultan/sinergi dari berbagai zat yang mempunyai efek mengobati (Yassir and Asnah, 2019).

Banyak penelitian ilmiah yang menunjukkan sembukan memiliki potensi besar di bidang kesehatan, seperti yang menyatakan bahwa tanaman sembukan berfungsi sebagai antioksidan karena mengandung senyawa

fenolik yang sangat tinggi, hal ini dikarenakan adanya kandungan senyawa metabolit sekunder pada sembukun seperti flavonoid, terpenoid, paedorolone, β -sitosterol, friedelin, campesterol dan senyawa aktif lainnya (Surahmaida, 2018).

Sembukan (*Paederia foetida* L.) berasal dari Asia Timur dan sekarang menjadi tanaman hias di seluruh dunia. Keterangan nama foetida menandakan bahwa tumbuhan tersebut berbau busuk. Umumnya, masyarakat menyebut sembukun dengan nama "daun kentut". Bau busuk dari sembukun ini keluar bila digosokkan di antara telapak tangan, dimakan, dan tercium saat sore hari. Tanaman ini dimanfaatkan masyarakat sebagai bahan makanan (botok), lalapan, obat diare, mengatasi maag, detoksifikasi (penawar racun), meningkatkan produksi sel darah putih, obat cacing, pereda kejang dan lain-lain (Surahmaida, 2018).

Antioksidan merupakan suatu senyawa yang dapat menyerap atau menetralkan radikal bebas sehingga mampu mencegah penyakit-penyakit degeneratif seperti kardiovaskular, karsinogenesis, dan penyakit lainnya. Senyawa antioksidan merupakan substansi yang diperlukan tubuh untuk menetralkan radikal bebas dan mencegah kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas terhadap sel normal, protein, dan lemak. Senyawa ini memiliki struktur molekul yang dapat memberikan elektronnya kepada molekul radikal bebas tanpa terganggu sama sekali fungsinya dan dapat memutus reaksi berantai dari radikal bebas (Fadul, 2019).

Aktivitas antioksidan didalam sampel ekstrak etanol daun sembukun, diuji menggunakan metode kromatografi lapis tipis dengan eluen N-heksan:Etil asetat (6:1) yang kemudian disempatkan dengan pereaksi DPPH dan dinyatakan positif dengan perubahan warna ungu menjadi warna kuning (Aswir and Misbah, 2018).

Pengujian aktivitas antioksidan dapat dilakukan secara *in vitro* dengan metode DPPH. DPPH merupakan suatu senyawa radikal yang bersifat stabil. DPPH digunakan untuk mengetahui aktivitas antioksidan melalui kemampuannya dalam menangkap radikal bebas. Aktivitas antioksidan diukur berdasarkan transfer elektron yang dilakukan oleh antioksidan. Semula DPPH yang berwarna ungu pekat memberikan serapan pada panjang gelombang 517 nm namun setelah mengalami reduksi maka DPPH akan berubah menjadi senyawa difenil pikril hidrazin yang warnanya akan berangsur-angsur memudar menjadi warna kuning dan nilai serapannya akan sebanding dengan jumlah elektron yang diterima (Wulansari, 2018).

METODE PENELITIAN

Bahan

Bahan yang digunakan adalah daun sembukun (*Paederia foetida* L.), etanol 70% (*OneMed*[®]) sebagai pelarut, Asam Askorbat[®] sebagai larutan pembanding, aquadest (*Water One*[®]), 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) sebagai reagent, FeCl₃[®] sebagai pereaksi uji fenolik, Eter[®] sebagai pelarut, Magnesium[®] (Mg) dan Asam Klorida[®] (HCl) digunakan sebagai pereaksi uji flavonoid.

Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: kantong plastik (*HDPE*[®]) digunakan untuk mengisi sampel, pisau (*Camel*[®]) digunakan untuk merajang sampel, gunting (*Joyko*[®]) digunakan untuk merajang sampel, kertas label sebagai penanda, alat tulis, blender (*miyako*[®]) untuk menghaluskan simplisia, oven (*Memmert*[®]) untuk mengeringkan sampel, pipet tetes (*OneMed*[®]) untuk memindahkan cairan dalam jumlah kecil, Erlenmeyer (*iwaki*[®]) untuk menampung bahan kimia cair, labu ukur (*iwaki*[®]) untuk mengukur dan mencampur larutan, neraca analitik (*RadWag*[®]) untuk menimbang bahan, tabung reaksi (*iwaki*[®]) untuk menampung, mencampur dan menyimpan bahan, rak tabung reaksi (*Rofa*[®]) untuk menyimpan tabung reaksi, pengaduk kaca (*iwaki*[®]) untuk mencampur bahan, Spatula[®] untuk mengambil bahan dalam jumlah kecil dan mengaduk larutan, ayakan 60 mesh (*ABM*[®]) untuk menyaring bagian yang tidak diinginkan pada simplisia, kertas saring (*Whatman*[®]) untuk memisahkan cairan dan padatan, corong kaca (*Phy Edumedia*[®]) untuk memudahkan memindahkan cairan dari satu wadah ke wadah lainnya, toples (*Canister*[®]) untuk maserasi, gelas ukur (*iwaki*[®]) untuk mengukur volume cairan, beaker glass (*iwaki*[®]) untuk mengukur volume cairan, sarung tangan (*Sensi*[®]) untuk melindungi tangan dari kontaminasi, masker (*Sensi*[®]) untuk melindungi bagian wajah, Aluminium foil[®] untuk membungkus dan melindungi bahan, rotary vacuum evaporator (*Heidolph*[®]) untuk mengubah sebagian atau keseluruhan pelarut dari

sebuah larutan dari bentuk cair menjadi uap, Spektrofotometri UV-Vis (*Biobase*[®]) untuk teknik analisis yang mengukur energi cahaya yang diserap oleh suatu sistem kimia pada panjang gelombang tertentu.

Metode

Penelitian ini adalah penelitian deskriptif kuantitatif pada uji aktivitas antioksidan dari fraksi etil asetat daun sembuka (*Paederia foetida* L.). Pengujian dilakukan dengan cara diekstraksi secara maserasi terlebih dahulu, dilanjutkan dengan uji aktivitas antioksidan dengan menggunakan Spektrofotometri UV-Vis.

Prosedur Kerja

1. Pengambilan dan Pengolahan Sampel

Sampel diambil pada pagi hari dengan cara di ambil daun kelima pada tanaman daun sembukan (*Paederia foetida* L.). Sampel yang di gunakan dalam penelitian ini adalah daun sembukan yang berwarna hijau tua, selanjutnya di potong kecil-kecil kemudian dilakukan pengeringan menggunakan oven dengan suhu 50°C hingga daun sembukan kering dan dapat diremas. Daun sembukan yang telah kering dihaluskan dengan blender dan diayak dengan ayakan 60 mesh hingga daun sembukan menjadi bubuk halus (F.Hidayat and Hapsari, 2020).

2. Pembuatan Ekstrak Sampel Dengan Metode Maserasi

Disiapkan bejana untuk maserasi. Simplisia daun sembukan sebanyak 500-gram diekstrak dengan perbandingan pelarut 1:10 (b/v). Sampel dimaserasi dengan pelarut etanol 70%. Kemudian direndam selama 6 jam pertama sambil sesekali diaduk, dan di amkan selama 18 jam. Pisahkan maserat dengan cara filtrasi. Hasil yang diperoleh dari filtrasi tersebut dinamakan filtrat. Filtrat yang diperoleh dikumpulkan untuk kemudian dipekatkan dengan rotary evaporator pada suhu 50-60°C sampai diperoleh ekstrak kental (Werdhasari, 2017).

3. Perhitungan Randemen Ekstrak

Untuk menentukan % Randemen digunakan rumus

$$\% \text{ randemen} = \frac{\text{berat ekstrak kental}}{\text{berat simplisia}} \times 100\%$$

Sumber:(Dewatisari, Rumiyaniti, and Rakhmawati, 2018).

4. Skrining Fitokimia

a. Uji Flavonoid

Ekstrak ditimbang sebanyak 1gram dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian dilarutkan dengan etanol, setelah itu dipanaskan sampai mendidih. Kemudian disaring dan dikocok. Lalu ditambahkan serbuk Mg dan diteteskan 2-4 tetes HCl pekat, kemudian campuran dikocok. Uji akan positif bila timbul warna merah (Purwati, Lumora, and Samsurianto, 2017).

b. Uji Fenolik

Ekstrak ditimbang sebanyak 1 gram dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan FeCl₃ 1% dimana reaksi positif terjadi jika terdapat perubahan warna hijau, ungu, biru dan hitam (Septia Ningsih, 2020).

5. Fraksinasi

Ekstrak etanol kental disuspensikan dengan air sebanyak 25 ml, kemudian ekstrak tersebut dipartisi dengan Eter 50 ml menggunakan corong pisah sebanyak 3 kali sampai fraksi eter tidak berwarna lagi, kemudian fraksi air dipartisi kembali dengan Etil Asetat masing-masing 25 ml sebanyak 3 kali, lalu fraksi etilasetat dievaporasi pada suhu 35-45°C sampai diperoleh fraksi Etil Asetat (Sembiring, Sangi, and Suryanto, 2017).

6. Skrining Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat

Pada plat KLT diberi tanda batas atas dan batas bawah. Pada batas bawah diberikan jarak antar sampel 1 cm dan pada jarak atas 0.5 cm. Sampel ekstrak etil asetat daun sembukan (*Paederia foetida* L.) ditotolkan pada plat KLT menggunakan pipa kapiler. Proses elusi dilakukan dengan cara plat KLT dimasukkan dalam

chamber yang telah berisi eluen yakni N- heksan: etil asetat (7:3) dan telah dijenuhkan. Eluen dibiarkan terelusi hingga mencapai batas plat yang telah ditandai sebelumnya. Setelah selesai, plat KLT dikeluarkan dari chamber dan diamati dibawah, lampu UV 366 Setelah itu, plat KLT disemprotkan dengan larutan DPPH (Ghasal dan Mandal, 2012). Bercak pada plat KLT yang memiliki aktivitas antioksidan berubah menjadi warna putih kekuningan (Mahmuda ,2018).

7. Uji Aktivitas Antioksidan Daun Sembukan (*Paederia foetida* L.) dengan metode DPPH

a. Pembuatan Larutan Stok DPPH 50 ppm

Larutan stok 50 ppm disiapkan dengan cara ditimbang 5 mg DPPH dilarutkan dengan etanol 70% hingga volumenya cukup 100 mL dalam labu ukur. Kemudian dihomogenkan dan diinkubasi selama 30 menit di tempat blanko (Jalip, 2021).

b. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum (λ maks)

Penentuan panjang gelombang maksimum DPPH bertujuan untuk mengetahui seberapa besar panjang gelombang yang dapat diabsorpsi oleh senyawa DPPH. Untuk alat yang digunakan adalah spektrofotometer UV-Vis. Pengujian dilakukan dengan memipet 5 ml DPPH. Divortex dan diinkubasi pada suhu ruang pada ruangan gelap selama 30 menit. Dilakukan pemilihan panjang gelombang maksimum dengan melakukan scan sampel pada rentang panjang 300-800 nm, dan di peroleh panjang gelombang 522 nm (Fadul, 2019).

c. Pengukuran Blangko

Pengujian dilakukan dengan dipipet 1 ml Etanol 70% ditambah 5 ml DPPH 50 ppm dan dicukupkan volumenya hingga 10 mL. Larutan ini kemudian diinkubasi selama 30 menit, lalu diukur absorbansinya pada panjang gelombang 522 nm (Widyowati, Ulfah, and Sumantri 2018).

d. Pembuatan Larutan Pembanding Asam Askorbat (Vitamin C)

Dibuat larutan stok 100 ppm dengan cara menimbang Asam Askorbat sebanyak 10 mg dilarutkan dengan aquadest ambil diaduk dan dihomogenkan. Lalu dicukupkan volumenya hingga 100 ml, kemudian dilakukan pengenceran :

- 1) Larutan stok Asam Askorbat 0,5 ml dengan konsentrasi 1 ppm
- 2) Larutan stok Asam Askorbat 1,5 ml dengan konsentrasi 3 ppm
- 3) Larutan stok Asam Askorbat 2,5 ml dengan konsentrasi 5 ppm
- 4) Larutan stok Asam Askorbat 3,5 ml dengan konsentrasi 7 ppm
- 5) Larutan stok Asam Askorbat 4,5 ml dengan konsentrasi 9 ppm

Pengujian dilakukan dengan memipet 1,0 ml larutan sampel dari berbagai konsentrasi. Kemudian masing-masing ditambahkan 5 ml DPPH 50 ppm dalam vial. Campuran kemudian diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C, lalu serapannya diukur pada panjang gelombang 522 nm (Aminah, 2016)

e. Pembuatan Larutan Sampel Ekstrak Etil Asetat Daun Sembukan

Dibuat larutan stok 100 ppm dengan cara menimbang Ekstrak Etil Asetat Daun Gandaria (*Paederia foetida* L) sebanyak 10 mg dan dilarutkan dengan Etanol sambil diaduk dan dihomogenkan lalu cukupkan volumenya hingga 100 ml. Selanjutnya dilakukan pengenceran :

- 1) Larutan stok Ekstrak Daun Sembukan 2,5 ml dengan konsentrasi 5 ppm
- 2) Larutan stok Ekstrak Daun Sembukan 5 ml dengan konsentrasi 10 ppm
- 3) Larutan stok Ekstrak Daun Sembukan 7,5 ml dengan konsentrasi 15 ppm
- 4) Larutan stok Ekstrak Daun Sembukan 10 ml dengan konsentrasi 20 ppm
- 5) Larutan stok Ekstrak Daun Sembukan 12,5 ml dengan konsentrasi 25 ppm

Pengujian dilakukan dengan memipet 1,0 ml larutan sampel dari berbagai konsentrasi. Kemudian masing-masing ditambahkan 5 ml DPPH 50 ppm dalam vial. Campuran kemudian

diinkubasi selama 30 menit pada suhu 370C, lalu serapannya diukur pada panjang gelombang 522 nm (Ketut, 2020).

f. Pembuatan Kurva Baku Asam Askorbat

Dipipet 1,0 ml kemudian ditambahkan dengan 5 ml DPPH 50 ppm pada masing-masing konsentrasi larutan pembanding asam askorbat yaitu 1 ppm, 3 ppm, 5 ppm, 7 ppm, 9 ppm dan dibiarkan selama 30 menit dalam wadah terlindung dari cahaya. Kemudian diukur serapan pada panjang gelombang 522 nm (Widyowati, Ulfah, and Sumantri, 2018).

g. Teknik Pengumpulan dan Pengolahan Data

Aktivitas dihitung berdasarkan besarnya % pengikatan atau inhibisi larutan baku Asam Askorbat (Vitamin C) dan sampel terhadap radikal bebas (larutan DPPH). Besarnya presentase pengikat radikal bebas dihitung dengan rumus :

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{Abs blangko} - \text{Abs sampel}}{\text{Abs Blangko}} \times 100\%$$

Untuk mengetahui seberapa besar aktivitas antioksidan ekstrak sampel dapat digunakan parameter nilai IC₅₀ dihitung dengan menggunakan persamaan regresi linear. Konsentrasi sampel sebagai sumbu x dan % inhibisi sebagai sumbu y, dari persen $y = a + bx$ dapat dihitung nilai IC₅₀ dengan menggunakan rumus sebagai berikut :

$$IC_{50} = \frac{(50) - a}{b}$$

Sumber:(Bahriul, Rahman, and Diah, 2018).

Dimana :

- Y = serapan
- X = Absorbansi
- standara = Intersep
- b = Slop

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tabel 1. Hasil ekstraksi daun sembukan (*Paederia foetida* L.)

Berat sampel	Pelarut	Berat Ekstrak	% Rendemen
500 g	Etanol 70%	48,69 g	9,738

Tabel 2. Hasil fraksinasi fraksi etil asetat daun sembukan

Berat ekstrak	Berat fraksi	% Rendemen
0,521 g	0,048 g	9,213

Tabel 3. Skrining ekstrak etanol daun sembukan

Sampel	Pengujian	Pereaksi	Perubahan warna	Hasil	Keterangan di literatur
Ekstrak etanol	Flavonoid	Mg + HCl p	Merah bata	+	Merah bata, kuning, jingga
	Fenolik	FeCl3	Hijau	+	Hijau, ungu, hitam

Tabel 4. Pengujian fraksi etil asetat daun sembukan

Sampel	Pengujian	Pereaksi	Perubahan warna	Hasil	Keterangandi literatur
	Aktivitas antioksidan	Disempromkan DPPH	Putih kekuningan	+	Putih kekuningan

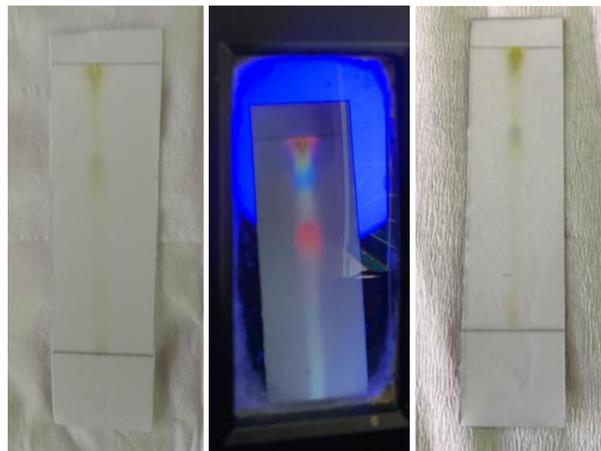
Fraksi etil asetat daun Sembukan	Flavonoid	Disemprotkan pereaksi AlCl ₃	Noda berfluorosensi kuning	+	Noda berfluorosensi kuning
	Fenolik	Disemprotkan pereaksi FeCl ₃	Noda berwarna hijau kehitaman	+	Noda berwarna hijau kehitaman



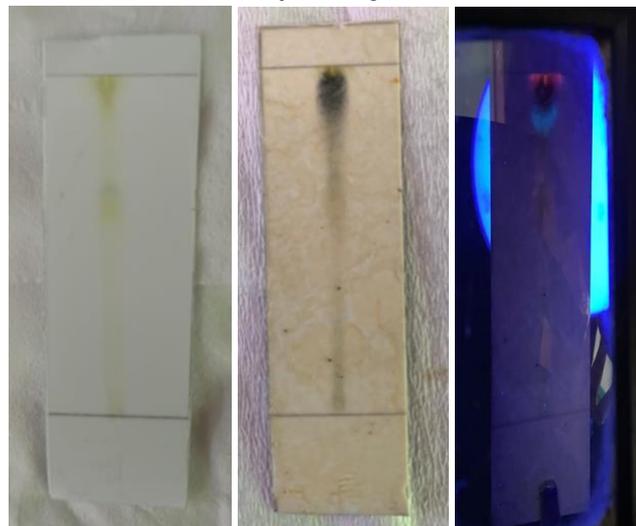
(Sebelum)

(Sesudah)

Gambar 1. Skrining Aktivitas antioksidan disemprotkan DPPH



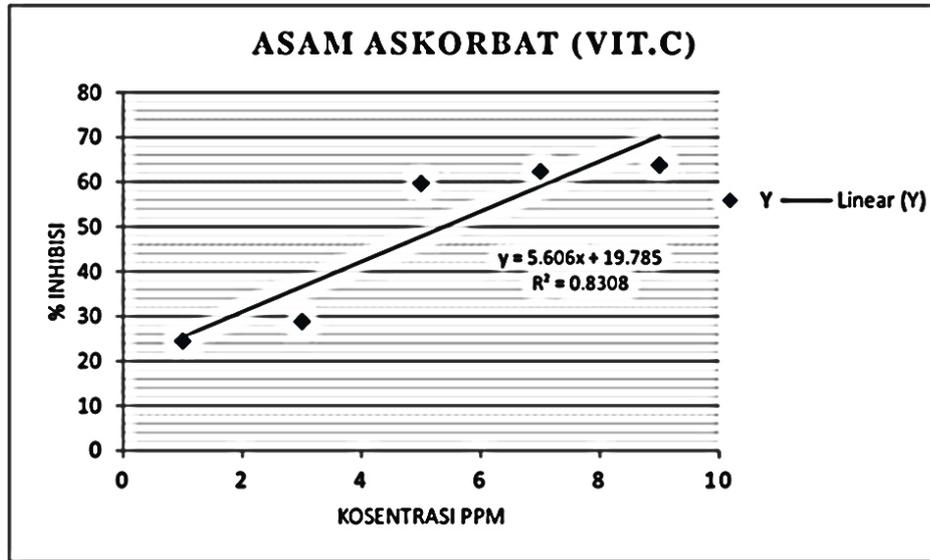
Gambar 2. Uji Golongan Flavonoid



Gambar 3. Uji Golongan Fenolik

Tabel 5. Hasil Pengukuran Aktivitas Antioksidan Larutan Pembanding Asam Askorbat

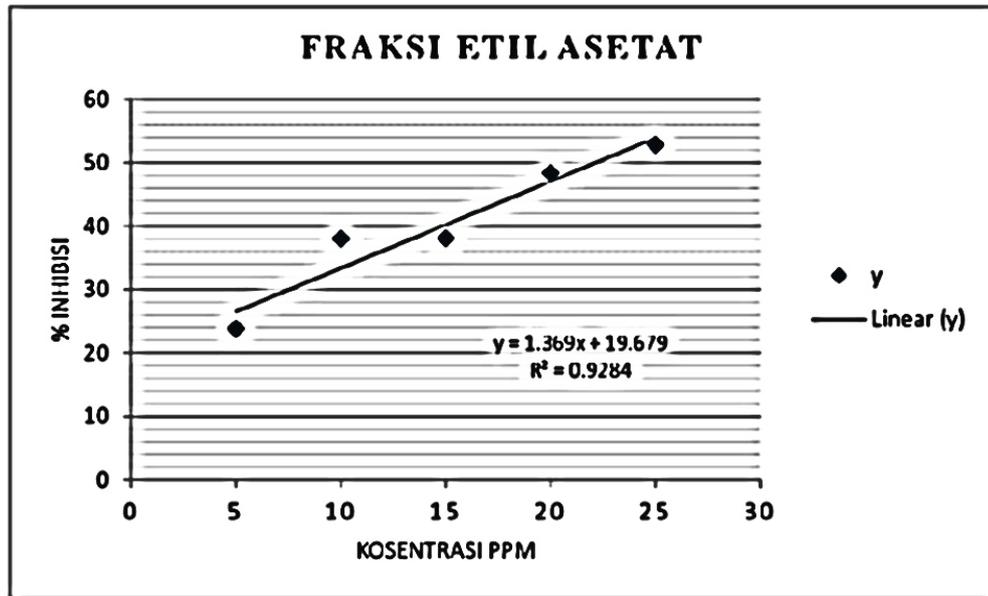
Kontrol Positif	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	%Peredaman	Nilai IC ₅₀ (ppm)
Asam Askorbat	1	0,692	24,45	5,389
	3	0,652	28,82	
	5	0,369	59,71	
	7	0,345	62,33	
	9	0,332	63,75	



Gambar 4. Grafik Persamaan Linear Asam Askorbat

Tabel 6. Tabel Hasil Pengukuran Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat Daun Sembukan

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	%Peredaman	Nilai IC ₅₀ (ppm)
Asam Askorbat	5	0,698	23.79	22.148
	10	0,568	37.99	
	15	0,563	38.10	
	20	0,473	48.36	
	25	0,432	52.82	



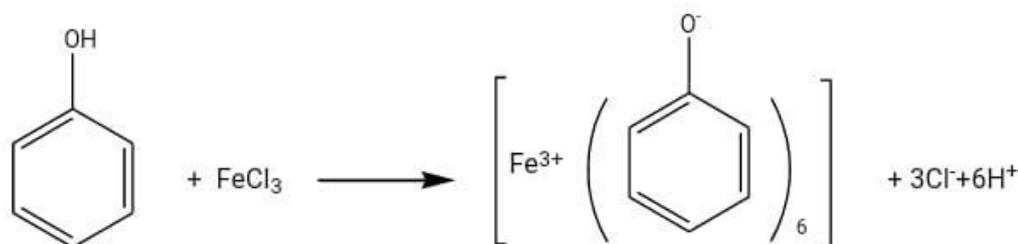
Gambar 5. Grafik Persamaan Linear Fraksi Etil Asetat Daun Sembukan

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah daun sembukan (*Paederia foetida L.*) sampel yang telah dikeringkan kemudian diserbukan sehingga dapat diekstraksi. Adapun tujuan dari proses ekstraksi adalah untuk menarik satu atau lebih komponen kimia atau senyawa-senyawa yang terdapat dalam sampel (Tuzzuhro, 2022). Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah maserasi. Pemilihan metode ekstraksi ini karena maserasi merupakan metode yang sederhana, mudah dan tanpa melalui proses pemanasan. Sehingga kemungkinan besar rusaknya komponen senyawa kimia dapat diminimalisir. Proses penyarian dilakukan dengan cara merendam sejumlah serbuk simplisia dalam cairan penyari. Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk kedalam rongga sel yang mengandung zat aktif, dan zat aktif akan larut karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif yang ada di luar sel, maka larutan terpekat akan didesak keluar. Ekstraksi atau penyarian merupakan proses pemisahan senyawa dari simplisia dengan menggunakan pelarut yang sesuai, peran ekstraksi dalam analisis fitokimia sangat penting karena sejak tahap awal hingga akhir menggunakan proses ekstraksi, termasuk fraksinasi dan pemurnian (Arjuno, 2016).

Penyari yang digunakan dalam penelitian ini yaitu etanol 70% untuk menyari senyawa flavonoid dan fenolik. Pemilihan pelarut ini disebabkan karena senyawa flavonoid umumnya dalam bentuk glikosida yang bersifat polar sehingga harus dilarutkan dengan pelarut yang bersifat polar. Etanol 70% dengan indeks polar sebesar 5,2 mampu menarik senyawa yang ada pada simplisia lebih banyak. Agar senyawa pada ekstrak tidak mengalami kerusakan, maka penguapan pada penelitian ini menggunakan *rotary evaporator* karena dapat menghasilkan ekstrak kental dan suhunya pun dapat diatur dengan mudah (Hasanah and Novian, 2020).

Fraksinasi merupakan teknik pemisahan ekstrak hasil maserasi yang telah diupkan sehingga diperoleh ekstrak kental. Pelarut yang digunakan untuk fraksinasi dalam penelitian ini adalah etil asetat. Fraksinasi dengan etil asetat dilakukan untuk memperoleh senyawa yang bersifat lebih polar seperti flavonoid, fenolik. Senyawa tersebut umumnya memiliki aktivitas sebagai antioksidan (Fitriani and Lestar, 2022).

Uji pendahuluan pada ekstrak etanol daun sembukan dilakukan untuk memberikan gambaran tentang senyawa yang terkandung dalam ekstrak etanol daun sembukan (*Paederia foetida L.*). Senyawa yang akan diidentifikasi yaitu senyawa flavonoid yang dilakukan dengan penambahan HCl dan Mg, dan senyawa fenolik yang dilakukan dengan penambahan FeCl₃



Gambar I. Reaksi Fenolik dan FeCl₃

Pada pengujian flavonoid ekstrak etanol dan sembukun (*Paederia foetida L.*) direaksikan dengan HCl dan Mg berbentuk warna kuning. Senyawa flavonoid akan dioksidasi dengan ion magnesium dengan membentuk kompleks. Dikatakan positif mengandung flavonoid apabila terbentuk warna merah bata, kuning atau jingga (Purwati, Lumora, and Samsurianto, 2017). Pada pengujian fenolik direaksikan dengan FeCl₃ berbentuk warna hitam. Dikatakan positif mengandung fenolik apabila terbentuk warna hijau, ungu, biru dan hitam (Sembiring, Sangi, and Suryanto, 2017).

Uji kualitatif antioksidan dilakukan menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT) dengan menyemprotkan DPPH (1,1-difenil-2-pikrihidrazil). Sebelum disemprotkan dengan DPPH pertama-tama sampel daun sembukun (*Paederia foetida L.*) ditotol pada lempeng kromatogram lalu dielusi dengan eluen N: heksan - Etil asetat (7:3). Eluen yang digunakan yaitu N- heksan: Etil asetat (7:3) karena telah dilakukan beberapa kali elusi menggunakan pelarut yang sama dengan perbandingan yang berbeda tetapi tidak terjadi pemisahan komponen-komponen senyawa kimia yang terdapat dalam fraksi etil asetat daun sembukun (*Paederia foetida L.*). Setelah dielusi diamati penampakan nodanya dibawa lampu UV 366 nm, noda akan berfluoresensi dan lempeng akan berwarna. Setelah itu disemprotkan dengan larutan DPPH. Pada pengujian fraksi etil asetat daun sembukun (*Paederia foetida L.*) secara kualitatif ini sampel daun sembukun berpotensi sebagai antioksidan alami yang berasal dari tumbuhan. Hasil positif ditandai dengan pemudaran warna dari warna ungu menjadi putih kekuningan (Mahmuda, 2018).

Tahap selanjutnya dilakukan uji golongan kandungan senyawa kimia fraksi etil asetat daun sembukun (*Paederia foetida L.*) positif mengandung senyawa fenolik, flavonoid. Uji terhadap kandungan senyawa fenolik dengan menggunakan pereaksi FeCl₃ Hasil positif yang ditandai dengan perubahan warna noda dari warna kuning ke warna hijau kehitaman, Uji golongan senyawa flavonoid menggunakan pereaksi Aluminium Klorida. Penampak noda diamati dibawah lampu UV 366 nm. Hasil positif ditandai dengan adanya noda berfluoresensi menjadi warna kuning (Mahmuda, 2018).

Dalam penelitian ini sampel fraksi etil asetat kemudian dilakukan pengujian aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode DPPH dan Asam Askorbat sebagai kontrol positif. Hasil penentuan panjang gelombang maksimum yaitu pada Panjang gelombang 522 nm, sehingga absorbansi pengukuran sampel dan kontrol positif dilakukan pada panjang gelombang 522 nm

Dalam penelitian ini kontrol positif yang digunakan sebagai pembanding adalah Asam askorbat (Vitamin C), vitamin C adalah vitamin yang paling umum di gunakan sebagai antioksidan. Vitamin C larut dalam air dan tersedia di beberapa sumber makanan, dan berfungsi sebagai antioksidan yang efektif dalam menghambat radikal bebas, secara kimia vitamin C mampu bereaksi dengan sebagian besar radikal bebas dan oksidan yang ada dalam tubuh (Wibawa, Herawati, 2020).

Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah metode DPPH. DPPH merupakan suatu senyawa yang bersifat stabil dan digunakan untuk mengetahui aktivitas antioksidan melalui kemampuannya dalam menangkap radikal bebas. Aktivitas antioksidan diukur berdasarkan transfer elektron yang dilakukan oleh antioksidan, metode ini banyak di pilih karena mudah, peka, cepat dan hanya membutuhkan sedikit ekstrak sampel (Wulansari 2018).

Aktivitas antioksidan pada tanaman sembukun berasal senyawa flavonoid dan fenolik yang terkandung dalam tanaman sembukun. Senyawa-senyawa tersebut mampu mengikat gugus dari pada radikal bebas yang

berfungsi sebagai reduktor sehingga dapat bertindak sebagai donor hidrogen terhadap radikal bebas atau termasuk dalam golongan senyawa yang berperan sebagai antioksidan, semakin tinggi konsentrasi suatu sampel berdampak pada persentase inhibisi yang semakin meningkat, dalam hal ini absorbansi yang di peroleh semakin rendah yang menunjukkan semakin banyak radikal bebas yang di hambat, senyawa pembanding yang di gunakan adalah vitamin C (Asam askorbat), vitamin C merupakan senyawa antioksidan alami yang di gunakan sebagai senyawa pembanding dalam pengujian aktivitas antioksidan, karena senyawa antioksidan yang alami relative aman dan tidak menimbulkan toksisitas.

Parameter untuk menginterpretasikan hasil pengujian dari metode DPPH umumnya dibuat dalam bentuk *Inhibitor Concentration 50* (IC_{50}), yang didefinisikan sebagai konsentrasi larutan substrat atau sampel yang akan mereduksi aktivitas DPPH sebesar 50%. Semakin besar nilai IC_{50} maka nilai aktivitas antioksidan akan semakin kecil (Molyneux, 2004).

Dari data hasil yang didapatkan fraksi etil asetat daun sembukan memiliki IC_{50} sebesar 22.148 ppm sedangkan kontrol positif asam askorbat memiliki nilai IC_{50} sebesar 5,390 ppm. Dari data tersebut, nilai IC_{50} antioksidan dari fraksi etil asetat daun sembukan masuk dalam kategori sangat kuat. Tingkat kekuatan antioksidan dengan metode DPPH digolongkan sesuai dengan nilai IC_{50} , nilai IC_{50} sangat kuat kurang dari 50 μ g/ml, kuat 50-100 μ g/ml, sedang 100-150 μ g/ml, lemah lebih dari 150 μ g/ml. Asam askorbat memiliki nilai antioksidan yang lebih tinggi, jika dibandingkan dengan fraksi etil asetat daun sembukan memiliki aktivitas antioksidan yang lebih rendah. Hal ini diakibatkan ekstrak terdiri dari beberapa campuran senyawa sedangkan asam askorbat merupakan senyawa murni (Molyneux, 2004).

Menurut penelitian Wahyuni pada tahun 2021 menyatakan bahwa aktivitas antioksidan terbukti dengan nilai IC_{50} terkecil dihasilkan dari ekstrak etanol kulit bawang merah dengan pelarut etanol 96% yaitu sebesar 34,74 ppm yang masuk dalam golongan antioksidan sangat kuat.

Menurut penelitian Handayani pada tahun 2020 menyatakan bahwa nilai IC_{50} ekstrak n-heksan yaitu 61,057 μ g/mL yang memiliki potensi antioksidan sedang, ekstrak etil asetat yaitu 41,756 μ g/mL yang memiliki potensi antioksidan kuat, dan ekstrak etanol yaitu 52,116 μ g/mL yang memiliki potensi antioksidan sedang, dibandingkan dengan kuarsetin yang memiliki IC_{50} 14,846 μ g/mL yang memiliki potensi sebagai antioksidan kuat.

Hal-hal yang dapat mempengaruhi aktivitas antioksidan pada penelitian ini adalah lokasi dan tempat tumbuh sampel. Ekstrak etanol daun sembukan dan fraksi etil asetat daun sembukan memiliki kandungan senyawa aktif di antaranya flavonoid dan fenolik. Berdasarkan kandungan senyawa tersebut yang berperan sebagai antioksidan adalah senyawa flavonoid dan fenolik.

KESIMPULAN

Kesimpulan yang diperoleh dari penelitian ini adalah fraksi etil asetat daun sembukan terbukti memiliki aktivitas antioksidan, yang ditandai dengan munculnya noda berwarna putih kekuningan. Aktivitas antioksidan fraksi etil asetat ini menunjukkan nilai IC_{50} sebesar 22,148 ppm, yang tergolong sangat kuat. Sebagai pembanding, asam askorbat (vitamin C) memiliki nilai IC_{50} sebesar 5,389 ppm. Dengan demikian, fraksi etil asetat daun sembukan memiliki potensi sebagai sumber antioksidan yang sangat kuat.

DAFTAR PUSTAKA

- Aminah, St Maryam, Muzakkir Baits, and Ummi Kalsum. 2016. "Perbandingan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona Muricata L.*) Berdasarkan Tempat Tumbuh Dengan Metode Peredaman Dpph." *Jurnal Fitofarmaka Indonesia* 3(1): 146–50
- Aswir, and Hasanul Misbah. 2018. "Uji Kualitatif Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Dan Batang Sembukan (*Paederia Foetida Linn*) Dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT)." *Photosynthetica* 2(1): 1–13.

- Ayuditya, Afifah. 2021. "Uji Aktivitas Antioksidan dan Identifikasi Senyawa Karagenan Dari Alga Merah (*Euchreuma collonii*) Hasil Ekstraksi Sonikasi Dengan Variasi Pelarut dan konsentrasi pelarut." Malang; Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana.
- Bahriul, Putrawan, Nurdin Rahman, and Anung Wahid M. Diah. 2018. "Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Salam (*Syzygium Polyanthum*) Dengan Menggunakan DPPH." *Jurnal Akademika Kimia* 3(3): 143–49.
- Damin Sumardjo. 2009. *Pengantar Kimia*. Jakarta; EGC
- Dewatisari, Whika Febria, Leni Rumiyantri, and Ismi Rakhmawati. 2018. "Rendemen Dan Skrining Fitokimia Pada Ekstrak Daun *Sansevieria* Sp." *Jurnal Penelitian Pertanian Terapan* 17(3): 197.
- Emelda M. Farm., Apt. 2019. *Farmakognosi*. Yogyakarta; PUSTAKA BARU PRESS
- F. Hidayat, A. S. Duniaji, and A. I. Hapsari. 2020. "Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Sembukan (*Paederia Foetida*) Terhadap *Vibrio Cholerae*." *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan (ITEPA)* 9(4): 390.
- Fabiana Meijon Fadul. 2019. "Skrining Dan Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat Ekstrak Etanol Daun Sukun (*Artocarpus Altilis*) DENGAN METODE DPPH (2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl)".
- Harborne JB. 1987. *Phytochemical Methods*. Ed ke-2. New York; Chapman and Hall
- Hanani E., Mun'im, A., Sekarini, R. 2005. "Identifikasi Senyawa Antioksidan Dalam Spons *Calispongia* Sp. Dari Kepulauan Seribu". *Majalah Ilmu Kefarmasian* 2(3):127-133.
- Handayani, Selpida. Najib Ahmad. Wisdawati dan Khoiriyah Anisatul. 2020. "Aktivitas Antioksidan *Caulerpa Lentillifera* J. Agardh Dengan Metode Peredaman Radikal Bebas 1,1-diphenyl-2 picrylhydrazil". *Jurnal Kesehatan* 13(1):61-70
- Hidjrawan Yusi. 2018. "Identifikasi Senyawa Tanin Pada Daun Belimbing Wuluh (*Auerrhoa bilimbi* L.)". Aceh; Universitas Teuku Umar.
- Hanani Endang. 2020. "Analisis Fitokimia". Jakarta; EGC.
- Indigomorie. 2009. "Antioksidan Apa yang Kita Perlu Ketahui Tentangnya". (<http://Netsains.com>). Diakses Juli 2019.
- Jalip, Ikna Suyatna, Suprihatin, Ida Wiryanti, and Ernawati Sinaga. 2021. "Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Temu Blenyeh." *Proceeding International Conference on Green Technology*: 93–99.
- Kataren., S. 1986. "Pengantar Teknologi dan Minyak dan Lemak Pangan". Jakarta: Universitas Indonesia
- Molyneux. 2004. "The Use of The Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) For Estimating Antioxidant Activity". *Songklanakarin J.Sci.Technol.* 26 (2):211-219.
- Maharani, Aura Iga et al. 2021. "Peran Antioksidan Alami Berbahan Dasar Pangan Lokal Dalam Mencegah Efek Radikal Bebas." *Prosiding Seminar Nasional Bio* 1(2): 390–99.
- Nur Amalyah Mahmuda. 2018. "Uji Kualitatif Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Dan Batang Sembukan (*Paederia Foetida* Linn) Dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT)." *Bitkom Research* 63(2): 1–3.
- Purwati, Sri, Sonja V. T. Lumora, and Samsuriyanto. 2017. "Skrining Fitokimia Daun Saliara (*Lantana Camara* L) Sebagai Pestisida Nabati Penekan Hama Dan Insidensi Penyakit Pada Tanaman Holtikultura di Kalimantan Timur." *Prosiding Seminar Nasional Kimia* 2017: 153–58.
- Pramesti R, Kelautan JI, Perikanan F, Kelautan I. 2020. "Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rumput Laut *Caulerpa serrulata* Dengan Metode DPPH (1,1 difenil 2 pikrilhidrazil). Akt Antioksidan Ekstrak Rumput Laut *Caulerpa serrulata* Dengan Metode DPPH (1,1 difenil 2 pikrilhidrazil)". 2(2):7–15. Available from: <http://ejournal.undip.ac.id/index.php/buloma>

- Sembiring, Elia, Meiske S Sangi, and Edi Suryanto. 2017. "Andungan Total Fenolik Yang Paling Tinggi Terdapat Pada Ekstrak Etanol Yaitu 62,44 Mg/Kg Dan Kandungan Total Karotenoid Yang Paling Tinggi Terdapat Pada Fraksi NHeksana Yaitu 1,433 Mg/G." *Chemistry Progress* 9(1): 14–20.
- Septia Ningsih, Dewi, Henri Henri, Occa Roanisca, and Robby Gus Mahardika. 2020. "Skruining Fitokimia Dan Penetapan Kandungan Total Fenolik Ekstrak Daun Tumbuhan Sapu-Sapu (*Baeckea Frutescens L.*)" *Biotropika: Journal of Tropical Biology* 8(3): 178–85.
- Surahmaida, Prasetyo Handrianto. 2018. "Analisis Kandungan Kimia Daun Dan Batang Sembukan (*Paederia Foetida*) Dengan Menggunakan 2 Pelarut Yang Berbeda." *Journal of Pharmacy and Science* 3(2): 23–27
- Trilaksani., W. 2003. "Antioksidan". Bogor;Institut Pertanian Bogor
- Wahyuni, Nadiya Eka. Yusuf Mahuri dan Tutik. 2021. "Pengaruh Konsentrasi Pelarut Terhadap Aktivitas Antioksidan Dan Kandungan Total Flavonoid Ekstrak Etanol Kulit Bawang Merah (*Allium Cepa L.*)". *Jurnal Farmasi Malahayati* 4(2):216-226
- Werdhasari, Asri. 2017. "Peran Antioksidan Bagi Kesehatan." *Jurnal Biomedik Medisiana Indonesia* 3(2): 59–68.
- Widyowati, Herni, Ma.ria Ulfah, and Sumantri. 2018. "Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanolik Herba Alfalfa (*Medicago Sativa L.*) Dengan Metode DPPH (1,1-Diphenyl-2 Picrylhidrazy)." *Jurnal Ilmu Farmasi Dan Farmasi Klinik* 11(1): 25–33.
- Wulansari, Anisa Nur. 2018. "Alternatif Cantigi Ungu (*Vaccinium Varingiaefolium*) Sebagai Antioksidan Alami : Review." *Farmaka* 16(2): 419–29.
- Yassir, Muhammad, and Asnah Asnah. 2019. "Pemanfaatan Jenis Tumbuhan Obat Tradisional Di Desa Batu Hampanan Kabupaten Aceh Tenggara." *BIOTIK: Jurnal Ilmiah Biologi Teknologi dan Kependidikan* 6(1): 17