

UJI FITOKIMIA DAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK FRAKSI n-HEKSANA, ETIL ASETAT DAN ETANOL SISA DARI DAUN SUNGKAI (*Peronema canescens* Jack.) DENGAN METODE DPPH

PHYTOCHEMICAL TEST AND ANTIOXIDANT ACTIVITY TEST OF n-HEXANE FRACTION EXTRACT, ETHYL ACETATE AND REMAINED ETHANOL FROM LEAF OF SUNGKAI (*Peronema canescens* Jack.) USING DPPH METHOD

Neli Peni Pindan¹, Daniel^{1,*}, Chairul Saleh¹, Agustina Rahayu Magdaleni²

¹Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Mulawarman
Jalan Barong Tongkok No. 4 Kampus Gunung Kelua, Samarinda, 75123

²Fakultas Kedokteran, Universitas Mulawarman
Jalan Kerayan Kampus Gunung Kelua, Samarinda, 75119

*E-mail: daniel_trg08@yahoo.com

Received: 12 April 2020, Accepted: 20 January 2021

ABSTRACT

Research on phytochemical test and antioxidant activity on sungkai leaf extract (*Peronema Canescens* Jack.) using DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*). Phytochemical test result showed that secondary metabolites in crude extracts were alkaloids, flavonoids, phenolics, triterpenoids, steroids and saponins, secondary metabolites in n-hexane were flavonoids, triterpenoids and steroids, secondary metabolites ethyl acetate were alkaloids, triterpenoids and steroids and secondary metabolites in residual ethanol is alkaloids, flavonoids, phenolics and steroids. The IC₅₀ values obtained in each crude extract, n-hexane, ethyl acetate and ethanol residue respectively: 29.549 ppm; 607.475 ppm; 12.986 ppm; 15.766 ppm. The highest level of antioxidant activity is in ethyl acetate fractions. Characterization results with GC-MS obtained by alkanes, alkenes, alcohols and fatty acids.

Keywords: *Sungkai Leaf Extract (Peronema canescens* Jack.), *Phytochemical Test, Antioxidant Activity Test, DPPH, GC-MS.*

PENDAHULUAN

Indonesia adalah negara dengan sumber daya alam yang sangat melimpah. khususnya sumber daya alam hayati yang memiliki jumlah tanaman obat sekitar 40.000 jenis, dimana sekitar 2,5% yang telah dieksplorasi dan dimanfaatkan sebagai obat tradisional [1]. Pada suku Dayak di Kalimantan Timur hingga saat ini masih mempertahankan tradisi leluhur dengan memanfaatkan tumbuhan di sekitarnya untuk pengobatan atau kesehatan misalnya tanaman sungkai (*Peronema canescens* Jack) dengan bagian daun muda digunakan sebagai obat cacangan, demam, obat pilek dan dapat dijadikan sebagai ramuan bagi wanita selepas bersalin [2].

Tanaman obat tradisional diketahui potensial untuk dikembangkan lebih lanjut pada pengobatan penyakit infeksi, namun masih banyak yang belum dibuktikan bioaktivitasnya secara ilmiah. Salah satu tumbuhan obat yang banyak tumbuh di Indonesia

yang banyak dimanfaatkan adalah tumbuhan Sungkai (*Peronema canescens* Jack) [3].

Daun sungkai (*Peronema canescens* Jack) termasuk kedalam famili *Lamiaceae*. Di Bengkulu, P. canescens dapat dijumpai di kebun, hutan maupun halaman dan dapat digunakan sebagai pagar rumah. Kulit sungkai berpotensi sebagai antioksidan alami dan daun sungkai berpotensi untuk meningkatkan sistem imun agar pengobatan secara tradisional dapat digunakan dalam sistem pelayanan kesehatan dan sesuai kaidah pelayanan kesehatan formal, yaitu secara medis harus dapat dipertanggungjawabkan. Kulit sungkai juga berpotensi sebagai antioksidan alami [4].

Senyawa antioksidan memiliki peran sangat penting dalam kesehatan. pakar ilmiah menunjukkan bahwa senyawa antioksidan mengurangi resiko berbagi penyakit kronis seperti kanker dan penyakit jantung koroner. Karakter utama senyawa antioksidan ialah kemampuannya menangkap radikal

bebas. Senyawa antioksidan dapat dihasilkan dari tumbuhan seperti vitamin C, vitamin E, karoten, golongan senyawa fenolat terutama flavonoid dan polifenol diketahui berpotensi mengurangi resiko penyakit kanker dan jantung koroner tersebut [5].

Berdasarkan penjelasan diatas maka penelitian terhadap daun sungkai (*Peronema Canescens* Jack) ini perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui jenis metabolit sekunder dan aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi etanol sisa pada daun sungkai dengan metode 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH).

METODOLOGI PENELITIAN

Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu: seperangkat alat gelas, neraca analitik, pisau, pipet tetes, belender, toples maserasi, corong kaca, batang pengaduk, spatula, gelas beaker, Erlenmeyer, labu ukur, corong pisah, tiang statif, klem, rotary evaporator, hot plate, botol reagen gelap, pipet tetes, pipet mikro, microplat, tabung reaksi, rak tabung reaksi, seperangkat alat destilasi, wadah sampel, gunting, incubator (Heraus), vortex dan spektrofotometer UV-Vis.

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu: daun sungkai (*Peronema canescens* Jack), etanol, n-heksana, etil asetat, DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl), kuarsetin, HNO_{3(p)}, bismut (III) nitrat, serum (IV) ammonium nitrat, KI, AlCl₃, larutan H₂SO_{4(p)}, asam asetat glasial, larutan FeCl₃ 1%, vanilin, akuades, kertas saring, kertas label dan aluminium foil.

Prosedur Penelitian

Ekstraksi sampel

Sampel daun sungkai (*Peronema canescens* Jack.) yang telah dihaluskan ditimbang lalu dimaserasi dengan larutan etanol selama 2 hari didalam botol kaca dan ditutupi bagian luar dengan plastik hitam agar terhindar dari cahaya matahari dengan sesekali diaduk, kemudian pelarut dipekatkan dengan alat rotary evaporator sampai didapatkan ekstrak kasar etanol. Ekstrak kasar total difraksinasi dengan pelarut n-heksana dan etil asetat dan hasil fraksinasi dipekatkan dengan alat rotary evaporator sehingga diperoleh ekstrak kasar, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi etanol sisa.

Uji fitokimia

Uji flavanoid

Ekstrak kasar etanol daun sungkai (*Peronema canescens* Jack.) dan fraksi-fraksinya dimasukkan ke dalam tabung reaksi, dilarutkan dengan pelarut yang sesuai, ditambahkan serbuk Mg dan larutan HCl_(p) ke dalam tabung reaksi dan dididihkan. Apabila pada sampel muncul warna merah, kuning dan jingga maka menunjukkan hasil positif flavonoid [6].

Uji alkaloid (uji Dragendorff)

Ekstrak kasar daun sungkai (*Peronema canescens* Jack) dan fraksi-fraksinya dimasukkan ke dalam tabung reaksi dilarutkan ke dalam pelarut yang sesuai, lalu ditambahkan dengan beberapa tetes H₂SO₄ 1 M dihomogenkan dan ditambahkan beberapa tetes pereaksi Dragendorff (pereaksi Dragendorff dibuat dari campuran Bi(NO₃)₂.5H₂O dalam asam nitrat dan larutan KI). Hasil menunjukkan positif alkaloid ditandai dengan terbentuknya endapan berwarna jingga sampai merah coklat [6].

Uji triterpenoid dan steroid (uji Lieberman-Burchard)

Ekstrak kasar daun sungkai dan fraksi-fraksinya dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan dilarutkan dalam pelarut yang sesuai (alkohol). lalu ditambahkan dengan larutan pereaksi Lieberman-Burchard yaitu CH₃COOH anhidrat : H₂SO₄ pekat. Apabila pada sampel muncul warna biru hingga hijau menunjukkan positif steroid dan apabila muncul warna merah hingga ungu menunjukkan positif triterpenoid [6].

Uji saponin (uji Forth)

Ekstrak kasar daun sungkai dan fraksi-fraksinya lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi dilarutkan dalam aquades dan dikocok selama 15 menit. Menunjukkan munculnya busa yang tahan lama di permukaan setelah proses pengocokkan serta busa tahan terhadap penambahan beberapa tetes larutan HCl pekat menunjukkan positif saponin [6].

Uji fenolik

Ekstrak kasar daun sungkai dan fraksi-fraksinya lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan larutan FeCl₃ ke dalam tabung tersebut dan dididihkan. Apabila pada sampel muncul warna hijau hingga hitam menunjukkan positif fenol [6].

Uji aktivitas antioksidan

Pembuatan larutan 0,25 mM DPPH

Larutan DPPH dibuat dengan melarutkan Kristal DPPH sebanyak 19,6 mg mg ditimbang dan dilarutkan dengan pelarut etanol 200 ml. Kemudian larutan dihomogenkan dan disimpan dalam botol gelap.

Pembuatan larutan uji

Sebanyak 40 mg ditimbang masing-masing ekstrak etanol, ekstrak fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat dan etanol sisa dari daun sungkai. Setelah itu sampel dilarutkan dengan pelarut etanol hingga 20 mL. Dibuat dalam konsentrasi 2000 ppm. Sampel dihomogenkan dan diletakkan ke dalam botol gelap. Disiapkan tabung reaksi untuk masing-masing variasi konsentrasi ekstrak etanol yaitu 10 ppm, 30 ppm, 50 ppm dan 70 ppm. Fraksi *n*-heksana konsentrasi 100 ppm, 200 ppm, 300 ppm, 400 ppm dan 500 ppm. Fraksi etil asetat dan etanol sisa dengan konsentrasi 1 ppm, 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm dan 20 ppm dibuat masing-masing sampel dengan berbagai konsentrasi, diulang sebanyak 3 kali.

Pembuatan larutan blanko

Disiapkan tabung reaksi pada masing-masing ekstrak kasar etanol, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi etanol sisa. Lalu ditambahkan etanol sebanyak 1 ml. Diulang sebanyak 3 kali.

Pembuatan larutan kuarsetin

Sebanyak 1 mg kuarsetin ditimbang, lalu dilarutkan dengan etanol sebanyak 20 mL, sehingga didapatkan larutan induk kuarsetin 50 ppm, Setelah itu dihomogenkan menjadi beberapa variasi konsentrasi berturut-turut 0,5 ppm, 1 ppm, 2 ppm dan 4 ppm dan masing-masing dilakukan tiga kali pengulangan.

Uji pendahuluan antioksidan

Disiapkan 7 tabung reaksi masing-masing dan ditambahkan larutan uji dengan konsentrasi 5; 10; 25; 50; 75; 100; 250 ppm, kemudian ditambah dengan etanol. Larutan uji dihomogenkan menggunakan *vortexer*. Ditambahkan DPPH sebanyak 1 mL, kemudian di-*vortex*. Larutan uji diinkubasi selama 30 menit. warna larutan diamati dan dibaca serapannya menggunakan *spectrophotometer visible* pada panjang gelombang 517 nm.

Penentuan aktivitas antioksidan

Larutan uji dan larutan blanko yang telah disiapkan masing-masing ditambahkan etanol dengan beberapa konsentrasi. Sedangkan untuk larutan

kuarsetin juga ditambahkan etanol masing-masing dengan beberapa konsentrasi. Larutan uji dan larutan kuarsetin ditambahkan DPPH sebanyak 1 mL, kemudian dihomogenkan menggunakan *vortexer* dan diinkubasi selama 30 menit. Warna larutan diamati dan dibaca serapannya dengan menggunakan *spektrofotometer visible* pada panjang gelombang λ 517 nm.

Teknik pengambilan data

Aktivitas antioksidan pada masing-masing sampel ekstrak, fraksi, larutan blanko dan larutan kuarsetin dinyatakan dengan presentase penghambatan radikal bebas (persen inhibisi) yang dapat dihitung menggunakan formulasi sebagai berikut.

$$\% \text{ inhibisi} = 100 - \{ [A_{\text{sampel}} - A_{\text{blanko}}] \times 100 / A_{\text{kontrol negatif}} \}$$

Nilai konsentrasi sampel (ekstrak *Peronema Canescens* Jack), fraksi ataupun antiosidan larutan rutin) dan hambatan ekstrak (persen inhibisi) di plot masing-masing pada sumbu x dan y dengan persamaan regresi linear. Persamaan tersebut diperoleh dari persamaan: $y = b(x) + a$, untuk mendapatkan nilai IC_{50} (*inhibitor concentration 50%*) masing-masing sampel, dinyatakan dengan y sebesar 50 dan x sebagai IC_{50} [7].

Karakterisasi senyawa kimia menggunakan GC-MS

Karakterisasi senyawa kimia menggunakan instrumen GC-MS untuk mengetahui berat molekul dan komponen senyawa kimia dalam fraksi tersebut.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji Fitokimia

Berdasarkan hasil uji fitokimia dari ekstrak kasar, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi etanol sisa dapat diketahui jenis metabolit sekunder yang terkandung disajikan pada Tabel 1.

Pada hasil uji fitokimia yang menunjukkan bahwa ekstrak kasar etanol daun sungkai positif mengandung alkaloid, flavonoid, steroid, triterpenoid, fenolik dan saponin dimana etanol yang bersifat polar dapat menarik senyawa baik polar maupun nonpolar. Pada fraksi *n*-heksana positif mengandung flavonoid, triterpenoid dan steroid dimana *n*-heksana yang bersifat non polar dapat menarik senyawa steroid yang bersifat non polar. Pada fraksi etil asetat positif mengandung alkaloid, fenolik, triterpenoid dan steroid. Dimana etil asetat bersifat semi polar sehingga dapat menarik senyawa baik itu polar maupun non polar. Sedangkan pada

fraksi etanol sisa positif mengandung alkaloid, flavonoid, fenolik, saponin dan steroid.

Tabel 1. Hasil uji fitokimia.

Jenis Senyawa	Jenis Ekstrak			
	Ekstrak kasar etanol	Fraksi n-heksana	Fraksi etil asetat	Fraksi etanol sisa
Alkaloid	+	-	+	+
Flavonoid	+	+	-	+
Triterpenoid	+	+	+	-
Steroid	+	+	+	+
Fenolik	+	-	+	+
Saponin	+	-	-	+

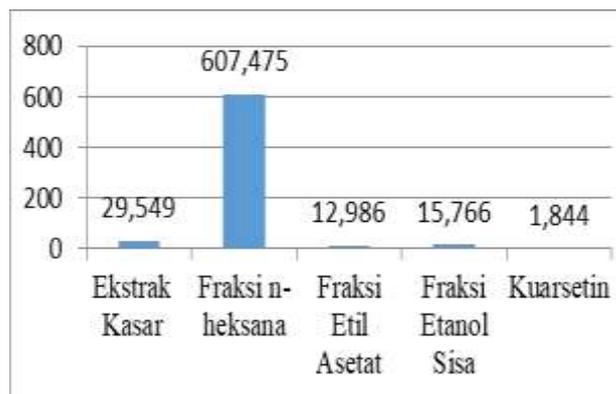
Keterangan:

(+) = Mengandung metabolit sekunder

(-) = Tidak mengandung metabolit sekunder

Uji Aktivitas Antioksidan

Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan pada variasi konsentrasi dari ekstrak kasar etanol sebesar 10 ppm, 30 ppm, 50 ppm dan 70 ppm. Fraksi n-heksana sebesar 100 ppm, 200 ppm, 300 ppm, 400 ppm dan 500 ppm. Fraksi etil asetat dan fraksi etanol sisa sebesar 1 ppm, 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm dan 20 ppm. Kuarsetin sebagai larutan perbandingan menggunakan variasi konsentrasi masing-masing sebesar 0,5 ppm, 1 ppm, 2 ppm dan 4 ppm. Pada perhitungan aktivitas antioksidan dilihat dari perubahan warna DPPH yang dinyatakan dalam % peredaman. Berdasarkan % peredaman yang diperoleh, ditentukan nilai IC₅₀ yang digunakan untuk hasil dari pengujian DPPH. Nilai IC₅₀ dapat diidentifikasi sebagai besarnya konsentrasi yang dapat menghambat aktivitas radikal bebas sebanyak 50% yaitu semakin kecil nilai IC₅₀ maka aktivitas antioksidan semakin besar. Bahwa semakin besar konsentrasi dari ekstrak sampel, nilai % aktivitas antioksidannya semakin meningkat yang ditunjukkan dengan semakin rendahnya nilai IC₅₀, hal ini dikarenakan semakin tinggi konsentrasi dari ekstrak sampel, donor hidrogen yang diberikan ekstrak sampel pada radikal bebas semakin banyak sehingga menyebabkan aktivitas antioksidannya meningkat yang ditunjukkan dengan semakin rendahnya nilai IC₅₀. Gambar 1 menunjukkan hasil diagram uji antioksidan.



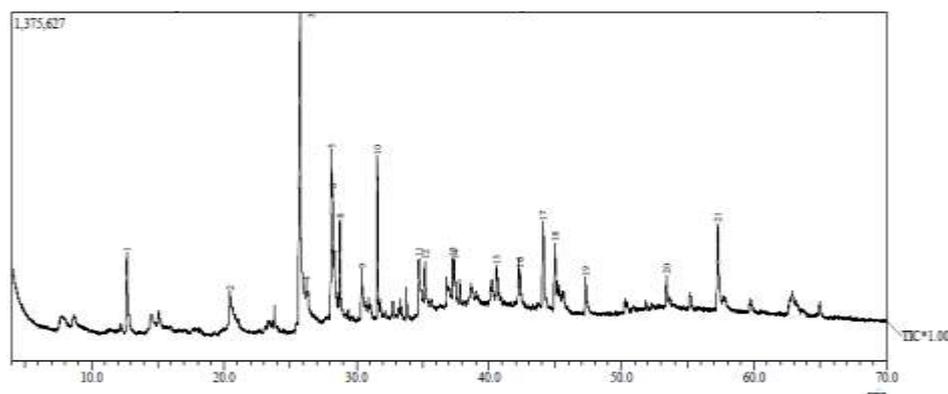
Gambar 1. Diagram nilai IC₅₀ ada ekstrak kasar etanol, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, fraksi etanol sisa dan kuarsetin.

Aminah *et al.* (2016) menyatakan bahwa apabila nilai (IC₅₀ < 10 ppm) maka senyawa tersebut merupakan antioksidan yang sangat kuat, apabila nilai (IC₅₀ 10-50 ppm) merupakan antioksidan yang kuat, apabila nilai (IC₅₀ 50-100 ppm) merupakan antioksidan yang sedang dan apabila nilai (IC₅₀ 100-250 ppm) merupakan antioksidan yang lemah. Dari hasil nilai IC₅₀ yang diketahui bahwa pada ekstrak kasar, fraksi etil asetat dan fraksi etanol sisa memiliki tingkat antioksidan yang kuat dimana semakin kecil nilai IC₅₀ maka semakin tinggi tingkat aktivitas antioksidan dari suatu sampel. Fraksi n-heksana memiliki tingkat antioksidan yang sangat lemah [8].

Karakterisasi Senyawa Kimia dengan GC-MS

Berdasarkan hasil analisis GC-MS yang telah dilakukan, maka diperoleh informasi komponen senyawa kimia pada fraksi etil asetat daun sungkai (*Peronema canescens* Jack) sebanyak 21 senyawa. Karakterisasi dengan GC-MS bertujuan untuk mengetahui berat molekul dan komponen senyawa kimia dalam fraksi tersebut. Adapun hasil dari analisis GC-MS fraksi etil asetat daun sungkai disajikan pada Gambar 2 dan Tabel 2.

Dari Tabel 2 dapat diketahui bahwa hasil GC-MS dari fraksi etil asetat daun sungkai (*Peronema canescens* Jack), diketahui hanya dominan mengandung golongan senyawa asam lemak yang terdiri dari *decanoic acid*, *dedecanoic acid*, *tetradecanoic acid*, *methyl 11-octadecenoate* dan *1,2-benzenedicarboxylic*. Senyawa alkana terdiri dari heptacosane dan tetratetracontane. Senyawa-senyawa alkohol terdiri dari *isopropyl myristate*, *1-icosanol* dan *1-hexadecanol*. Yang mana senyawa-senyawa di atas bukan termasuk dalam senyawa metabolit sekunder.



Gambar 2. Kromatogram fraksi etil asetat berdasarkan GC-MS.

Tabel 2. Komposisi senyawa kimia fraksi etil asetat berdasarkan GC-MS.

Peak	Waktu Retensi	Persen Area (%)	Berat Molekul	Senyawa
1	12.684	5.74	182	<i>ethyl phosphate</i>
2	20.458	2.59	172	<i>decanoic acid</i>
3	25.761	24.25	200	<i>dedecanoic acid</i>
4	26.242	2.54	242	<i>1-hexadecanol</i>
5	28.108	9.16	218	<i>3-oxo-2-phenylmethylene</i>
6	28.233	5.27	252	<i>5-octadecene</i>
7	28.361	3.33	224	<i>hexadecene</i>
8	28.758	3.82	226	<i>hexadecane</i>
9	30.402	3.61	228	<i>tetradecanoic acid</i>
10	31.585	6.79	270	<i>isopropyl myristate</i>
11	34.739	3.39	228	<i>tetradecanoic acid</i>
12	35.177	3.12	284	<i>hexadecanoic acid</i>
13	37.289	2.11	296	<i>methyl 11-octadecenoate</i>
14	37.407	2.28	282	<i>2-nonadecanone</i>
15	40.585	2.00	212	<i>2-propenyl decanoate</i>
16	42.342	1.90	298	<i>1-eicosanol</i>
17	44.096	4.35	268	<i>9-octadecanone</i>
18	44.981	3.18	390	<i>1,2-benzenedicarboxylic acid</i>
19	47.305	1.99	338	<i>12-tricosanone</i>
20	53.406	1.94	380	<i>heptacosane</i>
21	57.262	6.64	619	<i>tetratetracontane</i>

KESIMPULAN

Jenis metabolit sekunder yang terkandung dalam daun sungkai pada ekstrak kasar yaitu alkaloid, flavonoid, fenolik, steroid dan saponin. Pada fraksi *n*-heksana yaitu steroid, flavonoid dan triterpenoid. Pada fraksi etil asetat yaitu alkaloid, triterpenoid dan steroid serta pada fraksi etanol sisa yaitu alkaloid, flavonoid, fenolik, steroid dan

saponin. Nilai aktivitas antioksidan pada ekstrak kasar, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi etanol sisa pada daun sungkai dengan nilai IC₅₀ (*Inhibitory Concentration*) masing-masing sebesar 29,549 ppm, 607,475 ppm, 12,986 ppm dan 15,766 ppm. Senyawa yang terkandung pada fraksi etil asetat dari daun sungkai (*Peronema canescens* Jack) berdasarkan karakterisasi menggunakan GC-MS

diperoleh senyawa senyawa alkana, alkena, alkohol dan asam lemak.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Sumarsi dan Slamet P. 1992. *Sam-Sit dari Cina dan pemanfaatannya dalam penyembuhan tumor*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia dan Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia.
- [2] Harmida dan Yuni V.F. 2011. Studi etnofitomedika di desa Lawang Agung Kecamatan Mulak Ulu Kabupaten Lahat Sumatera Selatan. *Jurnal Penelitian Sains*, Volume 14 no 1(D) : 14110-42.
- [3] Hertiani T. dan Nurwindasari D.H. 2003. Uji *in vitro* antimikroba terhadap *Staphylococcus aureus*, *Eschericia coli*, *Shygella dysentriae* dan *Candida albicans* dari beberapa tanaman obat tradisional untuk penyakit infeksi. *Jurnal Farmasi Indonesia Pharmacon*. 4(2):89-95.
- [4] Yani A. P., Ruyani A., Ansyori I., dan Irwanto R. 2013. The potential test of sungkai young leaves (*Peronema canescens*) to maintain goodhelth (Immunity) in Mice (*Mus mucus*). *Seminar Nasional XI Pendidikan Biologi FKIP UNS*, pp.245-250.
- [5] Prakash A. 2001. Antioxidant activity. *Medallion Laboratories-Analytical Progress*, 19(2):1-4.
- [6] Harbone J. B. 1987. Metode fitokimia. Bandung: Penerbit ITB.
- [7] Thangaraj P. 2016. *Pharmacological assays of plant-based natural products*. Springer International Publishing, Switzerland, p. 188.
- [8] Aminah, Nurhayati T., dan Zainal A. 2017. Penetapan kadar flavonoid total ekstrak etanol kulit buah alpukat (*Persea americana* Mill.) dengan metode spektrofotometri UV-VIS. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 4(2):226-230.