

UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN KOMBINASI ESKTRAK METANOL DAUN REMEK DAGING (*Hemigraphis colorata* W.Bull) DAN DAUN KRATOM (*Mitragyna speciosa* Korth)

ANTIOXIDANT ACTIVITY OF A COMBINATION OF METHANOL EXTRACT OF MEAT REMEK LEAVES (*Hemigraphis colorata* W.Bull) DAN DAUN KRATOM (*Mitragyna speciosa* Korth)

Nur Aina, Chairul Saleh*, Eva Marlina

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

*Corresponding Author : chairulsaleh3103@gmail.com

Article History

Submitted : 08 November 2024

Accepted: 27 February 2025

ABSTRACT

Antioxidant activity test of a combination of methanol extracts of meat remek leaves (*Hemigraphis colorata* w. bull) and kratom leaves (*Mitragyna speciosa* Korth) using the 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) silencing method with vitamin C as a positive control was analysed by UV-Vis spectrophotometry. The methanol extract of remek leaves contains flavonoids, triterpenoids/steroids and phenolic compound while the methanol extract of kratom leaves contains triterpenoids, flavonoids, alkaloids, saponins and phenolic. The combination of the two extracts gave the highest % inhibition in the 1:1 ratio. The IC₅₀ values of methanol extracts of meat remek leaves, kratom leaves are 70.61; 33.43 ppm indicating antioxidant activity in the strong and very strong categories and the combination is 38.08 indicating the combination index is strong antagonist.

Keywords: *Hemigraphis colorata* W. Bull & *Mitragyna speciosa* Korth, Antioxidants and Combination.

1. PENDAHULUAN

Antioksidan merupakan senyawa yang mampu mengurangi aktivitas radikal bebas.¹ Antioksidan memiliki peran penting dalam mencegah penyakit degeneratif seperti penyakit kardiovaskular, karsinogenesis, dan berbagai penyakit lainnya. Senyawa antioksidan diperlukan oleh tubuh untuk menetralkan radikal bebas dan melindungi sel normal, protein, dan lemak dari kerusakan yang dapat diakibatkan oleh radikal bebas. Struktur molekuler senyawa antioksidan memungkinkannya untuk menyumbangkan elektron kepada molekul radikal bebas tanpa mengganggu fungsi normalnya, sehingga dapat memutus reaksi berantai yang diakibatkan oleh radikal bebas.²

Remek daging (*Hemigraphis colorata* W. Bull) merupakan tanaman dari famili Kereah (Malaysia), *H. colorata* disebut juga dengan "murikooti atau muryanpachae sebagai ramuan abadi. *H. colorata* dapat digunakan sebagai salep herbal untuk penyembuhan luka sayatan, bisul, pendarahan dan juga memiliki aktivitas antimikroba, antidiabetes dan antioksidan.³

Mitragyna speciosa Korth merupakan tumbuhan yang hidup di daerah tropis dan termasuk dalam famili Rubiaceae. Tumbuhan ini berasal dari Asia Tenggara menyebar hingga ke Muang Thai, Malaysia, Myanmar, Filipina, Papua Nugini dan Indonesia. *M. speciosa* dikenal sebagai kratom merupakan tanaman tradisional atau tanaman herbal yang digunakan untuk mengobati berbagai macam penyakit.⁴

This is an open-access article under the [CC-BY-SA](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/) license.



Berdasarkan uraian di atas, maka diperlukan suatu penelitian untuk mengetahui hasil uji aktivitas antioksidan kombinasi

ekstrak metanol daun remek daging (*Hemigraphis colorata* W.Bull) dan daun kratom (*Mitragyna speciosa* Korth) dengan menggunakan metode 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH).

2. METODE

2.1 Alat dan Bahan

2.1.1. Alat

Peralatan Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu wadah maserasi, neraca analitik, *blender*, *rotary evaporator*, spektrofotometri UV-Vis, *hot plate*, *aluminium foil*, *plastic wrap*, plastik hitam, kertas saring, *vortex*, dan alat-alat gelas.

2.1.2. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian yaitu daun remek daging, daun kratom, metanol, kloroform, ammonia pekat, pereaksi Dragendroff, larutan H_2SO_4 pekat, pita Mg, larutan $HCl_{(p)}$, NaOH 2 M, larutan $FeCl_3$ 1%, padatan asam askorbat, DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl), *buffer* asetat 0,1 M (pH 5,5) dan akuades.

2.2 Prosedur Penelitian

2.2.1. Preparasi Sampel

Sampel remek daging dan daun kratom dibersihkan kemudian dikeringkan. Kemudian sampel dihaluskan menggunakan *blender* hingga menjadi serbuk dan ditimbang berat keringnya.

2.2.2. Ekstraksi Sampel

Sampel remek daging dan daun kratom dimaserasi menggunakan pelarut metanol selama 24 jam dan diulang sebanyak 3 kali. Hasil maserasi disaring kemudian filtrat di pekatkan menggunakan alat *rotary evaporator* pada suhu 40-50°C dan diperoleh ekstrak metanol daun remek daging dan daun kratom.

2.2.3. Skrining Fitokimia

2.2.3.1. Uji alkaloid

Sebanyak 1 pipet larutan ekstrak kasar, ditambahkan larutan kloroform-amoniak hingga terbentuk 2 fase. Fase bawah diambil kemudian di tambah 10 tetes larutan H_2SO_4 2N hingga terbentuk 2 fase. Fase atas yang terbentuk diambil dan ditambahkan 2 tetes pereaksi Dragendorff. Adanya alkaloid ditunjukkan dengan terbentuknya endapan jingga sampai merah coklat.⁵

2.2.3.2. Uji triterpenoid dan steroid

Sebanyak 1 pipet larutan ekstrak kasar ditambahkan 10 tetes pereaksi Lieberman-Burchard. Uji positif triterpenoid memberikan warna merah atau coklat dan uji positif steroid memberikan warna hijau atau biru.⁵

2.2.3.3. Uji fenolik

Sebanyak 1 pipet larutan ekstrak kasar ditambahkan larutan $FeCl_3$ 1% beberapa tetes, ekstrak positif mengandung fenolik apabila menghasilkan warna hijau, merah, ungu, biru atau hitam.⁵

2.2.3.4. Uji flavonoid

Sebanyak 1 pipet larutan ekstrak kasar ditambahkan pita Mg dan 3 tetes HCl pekat. Uji positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah ceri.⁵

2.2.3.5. Uji Saponin

Sebanyak 1 pipet larutan ekstrak kasar ditambahkan akuades panas dan dikocok kuat, jika timbul busa ditambahkan 1 tetes $HCl_{(p)}$. Ekstrak positif mengandung saponin jika timbul busa dengan ketinggian 1-3 cm yang bertahan selama 15 menit.⁵

2.2.4. Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

2.2.4.1. Pembuatan larutan DPPH

Padatan DPPH seberat 2,5 mg dilarutkan dalam metanol sebanyak 25 mL hingga larut sempurna dan diperoleh larutan DPPH konsentrasi 100 ppm tersebut disimpan dalam botol gelap dan tertutup.

2.2.4.2. Penentuan panjang gelombang maksimum

Larutan DPPH konsentrasi 100 ppm, sebanyak 400 µL dicampurkan dengan larutan *buffer* asetat konsentrasi 0,1 M sebanyak 800 µL (pH 5,5) dan metanol sebanyak 800 µL. Campuran larutan didiamkan selama 30 menit dalam ruangan gelap. Lalu diukur menggunakan alat spektrofotometri *UV-Vis* dengan rentang panjang gelombang 508-540 nm.

2.2.5. Pembuatan Larutan Uji

2.2.5.1. Pembuatan larutan induk 500 ppm

Ekstrak daun remek daging dan ekstrak daun kratom masing-masing diambil sebanyak 5 mg kemudian dimasukkan kedalam gelas *beaker* berbeda. Masing-masing ekstrak ditambahkan sedikit metanol dan dihomogenkan hingga larut sempurna. Masing-masing larutan dimasukkan kedalam labu takar 10 mL yang berbeda kemudian di tambahkan dengan metanol hingga mencapai tanda tera lalu dihomogenkan hingga diperoleh larutan induk ekstrak daun remek daging 500 ppm dan ekstrak daun kratom 500 ppm.

2.2.5.2. Pembuatan larutan uji 100 ppm

Larutan kombinasi dibuat menggunakan larutan induk masing-masing ekstrak dengan konsentrasi 100 ppm dengan total volume larutan kombinasi yang dibuat sebanyak 10 mL dalam 3 kali pengulangan pembuatan larutan kombinasi.

2.2.5.3. Pembuatan larutan pembanding vitamin C

Padatan vitamin C seberat 2,5 mg dilarutkan dengan metanol sebanyak 25 mL dalam gelas *beaker* dan dihomogenkan hingga larut sempurna hingga diperoleh larutan vitamin C konsentrasi 100 ppm divariasikan konsentrasinya menjadi 2, 4, 6 dan 8 ppm dan diulang sebanyak 3 kali pada masing-masing konsentrasi.

2.2.6. Penentuan Persen Inhibisi

2.2.6.1. Penentuan kombinasi terpilih

Sebanyak 400 µL larutan DPPH 100 ppm dicampurkan dengan 800 µL larutan *buffer* asetat 0,1 M (pH 5,5). Campurkan ini kemudian ditambahkan 800 µL masing-masing larutan ekstrak pada 5 botol vial yang berbeda dengan variasi perbandingan 1:9, 3:7, 1:1, 7:3, dan 9:1. Larutan kemudian dihomogenkan dengan *vortex* dan diinkubasi pada suhu ruang dalam ruangan gelap selama 30 menit. Nilai absorbansi masing-masing sampel diukur dengan menggunakan spektrofotometer *UV-Vis* pada Panjang gelombang maksimum (516 nm). Pengukuran dilakukan sebanyak 3 kali pada sampel, kontrol negatif dan kontrol positif.

2.2.6.2. Penentuan persen inhibisi ekstrak tunggal dan kombinasi terpilih

Sebanyak 400 µL larutan DPPH 100 ppm dicampurkan dengan 800 µL larutan *buffer* asetat 0,1 M (pH 5,5). Campurkan ini kemudian ditambahkan 800 µL masing-masing larutan ekstrak Tunggal dan larutan kombinasi terpilih dengan masing-masing variasi konsentrasi. Larutan kemudian dihomogenkan dengan *vortex* dan diinkubasi pada suhu ruang dalam ruangan gelap selama 30 menit. Nilai absorbansi masing-masing sampel diukur dengan menggunakan spektrofotometer *UV-Vis* pada panjang gelombang maksimum 516 nm. Pengukuran dilakukan sebanyak 3 kali pada sampel, kontrol negatif dan kontrol positif.

2.3 Analisis Data

Berdasarkan nilai absorbansi yang diperoleh maka nilai persen inhibisi dapat dihitung menggunakan **persamaan 1** sebagai berikut.

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{(\text{Abs Kontrol} - \text{Abs Sampel})}{\text{Abs Kontrol}} \times 100\%$$

Persamaan 1

Keterangan:

Abs kontrol = absorbansi radikal DPPH

Abs sampel = absorbansi sampel dalam radikal DPPH

Hasil perhitungan tersebut dimasukkan kedalam persamaan regresi linier yaitu $y = ax + b$. Dari persamaan tersebut dapat dihitung nilai IC_{50} dengan menggunakan **Persamaan 2** sebagai berikut.

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

Persamaan 2

Keterangan:

y = %50 (penghambat 50% oksidasi)

x = IC_{50} (bilangan yang menunjukkan konsentrasi ekstrak yang mampu menghambat proses oksidasi sebesar 50%)

Berdasarkan nilai IC_{50} yang diperoleh maka nilai *Combination Index* (CI) dapat dihitung dengan menggunakan **Persamaan 3** sebagai berikut.

$$CI = \frac{D1}{(D_x) 1} + \frac{D2}{(D_x) 2}$$

Persamaan 3

Keterangan:

D1 & D2 = Nilai IC_{50} Ekstrak Kombinasi

(Dx) 1 = Nilai IC_{50} Ekstrak Tunggal

(Dx) 2 = Nilai IC_{50} Ekstrak Tunggal

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Ekstraksi Sampel

Daun remek daging dan daun kratom kering diperoleh sebanyak 208 g dan 414 g. Sampel dikeringkan menggunakan oven tanpa terkena sinar matahari langsung agar senyawa aktif pada sampel tidak rusak. Pengeringan dilakukan agar sampel tidak mudah berjamur. Simplisia dihaluskan menggunakan *blender* hingga menjadi serbuk bertujuan untuk memperluas permukaan pada partikel sampel dengan pelarut dan mempermudah penetrasi pada sampel sehingga dapat menarik suatu senyawa metabolit sekunder dari simplisia yang lebih banyak⁶. Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi. Maserasi merupakan proses yang cukup sederhana tanpa sistem pemanasan atau disebut juga dengan ekstraksi dingin. Serbuk tanaman yang sudah dihaluskan direndam dengan pelarut yang sesuai dan diikuti pengadukan pada wadah yang ditutup rapat pada suhu kamar. Metode maserasi juga untuk dilakukan untuk meminimalisir resiko rusaknya senyawa-senyawa pada tanaman yang bersifat termolabil⁷. Menurut Alfauzi dkk., (2022) maserasi menggunakan pelarut metanol karena pelarut metanol bersifat universal yang dapat melarutkan senyawa polar, semi-polar dan nonpolar. Hasil maserasi lalu disaring dan diperoleh filtrat kemudian dipekatkan menggunakan *rotary evaporator*, sehingga diperoleh ekstrak kasar daun remek daging dan daun kratom. Ekstrak metanol daun remek daging ditimbang diperoleh 126 gram dengan rendemen sebesar 12,5 % dan ekstrak metanol daun kratom 184 gram dengan rendemen sebesar 20,29 %.

3.2 Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan bertujuan untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder pada ekstrak kasar yang dilakukan dengan metode uji warna menggunakan pereaksi spesifik. Adapun hasil uji fitokimia ekstrak kasar daun remek daging dan daun kratom ditunjukkan pada **Tabel 1**.

Tabel 1. Hasil uji fitokimia ekstrak kasar daun remek daging dan daun kratom

Golongan Senyawa	Remek Daging	Kratom
Alkaloid	-	+
Flavonoid	++	+
Saponin	-	+
Triterpenoid	+	+
Steroid	+	-
Fenolik	++	+

Keterangan: (+) = Menandakan positif mengandung metabolit sekunder
(++) = Mengandung senyawa dengan intensitas warna lebih pekat
(-) = Menandakan negatif mengandung metabolit sekunder

Berdasarkan pada **Tabel 1.** diperoleh ekstrak metanol daun remek daging positif mengandung flavonoid, triterpenoid, steroid dan fenolik. Sedangkan ekstrak metanol daun kratom positif mengandung alkaloid, fenolik, flavonoid, saponin dan triterpenoid. Metabolit sekunder yang terdapat pada masing-masing ekstrak berpotensi sebagai senyawa aktif khususnya pada aktivitas antioksidan.⁸

3.3 Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

Uji aktivitas antioksidan dari ekstrak daun remek daging, daun kratom dan kombinasi terpilih dilakukan secara kuantitatif menggunakan metode DPPH dengan kontrol positif vitamin C. Prinsip kerja dari pengukuran adalah adanya radikal bebas yaitu DPPH yang dicampurkan dengan senyawa antioskidan yang memiliki kemampuan untuk mendonorkan atom H sehingga dapat meredam radikal bebas. Metode tersebut merupakan metode yang sering dipakai secara *in vitro* yang sederhana, mudah, cepat dan memerlukan sedikit sampel untuk menentukan aktivitas antioksidan dari senyawa bahan alam dan diuji dengan secara luas senyawa yang berperan sebagai pendonor elektron.⁸

3.4 Penentuan Kombinasi Terpilih

Penentuan kombinasi ekstrak terpilih berdasarkan pada nilai % inhibisi peredaman DPPH tertinggi. Dilakukan pengujian dengan mengukur absorbansi campuran larutan ekstrak metanol daun remek daging dan daun kratom, larutan DPPH dan larutan *buffer* asetat (pH = 5,5). Nilai % inhibisi dari ekstrak metanol kombinasi daun remek daging dan daun kratom pada **Tabel 2.**

Berdasarkan pada **Tabel 2.** diperoleh nilai % inhibisi pada kombinasi ekstrak metanol daun remek daging dan daun kratom yaitu dengan % inihibisi yang berbeda pada setiap kombinasi. Adapun kombinasi ekstrak terpilih dengan % inhibisi yang tertinggi yaitu pada perbandingan 1:1 dengan kosentrasi 100 ppm sebesar 98,25%.

Tabel 2. Penentuan nilai % Inhibisi esktrak metanol daun remek daging dan daun kratom

Kombinasi (Daun RemekK Daging : Daun Kratom	Kosentrasi (ppm)	Absorbansi Rata- rata	Inhibisi (%)
1:9	100	0,041	97,29
3:7	100	0,034	96,79
1:1	100	0,034	98,25
7:3	100	0,042	96,83
9:1	100	0,116	87,62

3.5 Penentuan Nilai IC₅₀

Aktivitas antioksidan dinyatakan dalam nilai IC₅₀ dimana menunjukkan konsentrasi yang mampu meredam 50% radikal bebas, semakin kecil nilai IC₅₀ maka semakin kuat aktivitas antioksidannya begitupun sebaliknya semakin besar nilai IC₅₀ maka semakin lemah aktivitas antioksidannya. Nilai IC₅₀ ekstrak metanol daun remek daging dan daun kratom disajikan pada **Tabel 3**.

Tabel 3. Penentuan nilai IC₅₀ ekstrak metanol daun remek daging (*Hemigraphis colorata* W.Bull) dan daun kratom (*Mitragyna speciosa* Korth)

Sampel Uji	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi Rata-rata	Inhibisi %	IC ₅₀ (ppm)	Kategori Antioksidan
Remek Daging	20	0,572	22,69	70,61	Kuat
	40	0,493	32,87		
	60	0,478	37,91		
	80	0,369	51,16		
	100	0,265	67,12		
Kratom	20	0,491	34,29	33,43	Sangat Kuat
	40	0,352	52,36		
	60	0,239	68,82		
	80	0,157	81,65		
	100	0,055	96,42		
Asam Askorbat	2	0,385	38,49	3,58	Sangat Kuat
	4	0,341	45,52		
	6	0,209	66,61		
	8	0,186	70,28		

Berdasarkan **Tabel 3**. IC₅₀ menunjukkan bilangan konsentrasi ekstrak yang mampu menghambat proses oksidasi sebesar 50%. Ekstrak Tunggal dan perbandingan memiliki aktivitas antioksidan yang bervariasi. Hal ini disebabkan adanya distribusi jenis dan jumlah senyawa metabolit sekunder yang bersifat sebagai antioksidan berdasarkan kepolaran pelarut yang digunakan.⁹ Pada tabel tersebut juga menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi sampel tersebut maka akan semakin kecil nilai absorbansi yang diperoleh, dalam penelitian ini absorbansi yang diperoleh semakin rendah yang mana menunjukkan banyak radikal bebas yang dihambat.¹⁰

3.6 Penentuan Nilai Indeks Kombinasi

Nilai *Combination Index* (CI) merupakan ukuran berdasarkan tingkat interaksi obat dalam rentang sinergis dan antagonis untuk menentukan titik akhir dari efek pengukuran. Menurut Rikantara dkk., (2020) pada penentuan nilai indeks kombinasi pada rentang nilai kombinasi 0,30-0,70 bersifat sinergis dan pada rentang 1,45-3,30 bersifat antagonis. Pada penelitian ini diperoleh nilai indeks kombinasi ekstrak metanol daun remek daging (*Hemigraphis colorata* W. Bull) dan daun kratom (*Mitragyna speciosa* Korth) pada perbandingan 1:1 diperoleh nilai indeks kombinasi sebesar 1,67 bersifat antagonis.

4. KESIMPULAN

Ekstrak metanol daun remek daging (*Hemigraphis colorata* W.Bull) mengandung senyawa flavonoid, fenolik, triterpenoid dan steroid, sedangkan ekstrak metanol daun kratom (*Mitragyna speciosa* Korth) mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, triterpenoid, saponin dan fenolik. Kombinasi ekstrak metanol daun remek daging dan daun kratom 1:1 memberikan % inhibisi tertinggi sebesar 98,25 %. Aktivitas antioksidan ekstrak metanol daun remek daging, daun kratom dan kombinasi terpilih dengan nilai IC₅₀ berturut-turut sebesar 70,61; 33,43; 38,07 ppm.

DAFTAR PUSTAKA

1. Hasanuddin, A. R. P., Yusran, Islawati, & Artati. Extract *Anredera cordifolia* (Ten) Steenis. *Jurnal Biologi Makassar* **2023**, 66–74.
2. Sandhiya. S, Sabarinath. K, Ishwarya .R, Logeshwaran & V, Kousalya. N. Review on Hemigraphis Colorata and Its Properties. *International Journal of Engineering Applied Sciences and Technology* **2019**, 04(07), 336–338.
3. Nugraha, W. I., Robiyanto, R., & Luliana, S. Antinociceptive Activity of Aqueous Fraction of Kratom Leaves (*Mitragyna speciosa* Korth.) on Male Swiss Albino Mice. *Majalah Obat Tradisional* **2018**, 23(2), 91.
4. Harborne, J. B. (1987). *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan* (2 ed.). Institut Teknologi BandungHartati, Suryani I.A, sahribulan, pagarra, H. Indonesian Fundamental. *Indonesian Journal of Fundakental Sciences* **2018**, 4(2), 102–109.
5. Nopiana, M., Putri, E. M., Novariyan, A., Pahrudin, I., Junaedi, C., & Rudiana, T. Karakterisasi Fraksi Aktif Antioksidan dari Biji Gandaria (*Bouea macrophylla*). *ALCHEMY:Journal of Chemistry* **2023**, 11(1), 35–40.
6. Aqdar, F. M. (2020). Uji ekstrak daun maja (*Aegle marmelos* L.) Terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia Coli* dan *Staplococcus Aureus*. *Indonesian Journal of Fundakental Sciences* **2020**, 4(2), 102–109.
7. Membri, D. K., Yudistira, A., & Abdullah, S. S. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Spons *Liosina Paradoxa* Yang Dikoleksi Dari Pulau Mantehage. *Pharmacon* **2021**,10(2),774.
8. Huliselan, Y. M., Runtuwene, M. R. J., & Wewengkang, D. S. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol, Etil Asetat, dan N-Heksan dari Daun Sesewanua (*Clerodendron squamatum* Vahl.). *Pharmacon* **2015**, 4(3), 155–163.
9. Moniung, P., Singkoh, M., & Butarbutar, R. Potensi Alga *Halymenia durvillei* Sebagai Sumber Antioksidan Alami. *Jurnal Bios Logos* **2022**, 12(1), 39.
10. Rikantara, F. S., Utami, M. R., & Kasasiah, A. Aktivitas Antioksidan Kombinasi Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) dan Ekstrak Daun Pepaya (*Carica papaya* L.) dengan Metode DPPH. *Lambung Farmasi: Jurnal Ilmu Kefarmasian* **2022**, 3(2), 124–133.