

UJI FITOKIMIA DAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK FRAKSI n-HEKSANA, ETIL ASETAT DAN ETANOL SISA DARI TUMBUHAN SURUHAN (*Peperomia pellucida* (L.) Kunth) MENGGUNAKAN METODE DPPH

PHYTOCHEMICAL AND ANTIOXIDANT ACTIVITY TESTS OF n-HEXANE, ETHYL ACETATE, AND ETHANOL FRACTIONS FROM SURUHAN (*Peperomia pellucida* (L.) Kunth) USING DPPH METHOD

Darmita Tiku Lembang*, Daniel, dan Chairul Saleh

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

*E-mail: darmita76@gmail.com

Received: 20 May 2019, Accepted: 20 March 2020

ABSTRACT

The phytochemical test and the antioxidant activity test of the Suruhan (*Peperomia pellucida* (L.) Kunth) using the DPPH method have been done. The result of phytochemical tests on Suruhan (*Peperomia pellucida* (L.) Kunth) ethanol extract are positive in alkaloids, triterpenoids, steroids, and phenolics, in n-hexane fraction is positive in steroids, in ethyl acetate fractions is positive in alkaloids, triterpenoids, steroids, and phenolics, the residual ethanol fraction is positive in alkaloids, triterpenoids, saponins and phenolics. Based on the result of the antioxidant test using the DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) method, the ethanol extract, n-hexane fraction, ethyl acetate fraction, and residual ethanol fraction have IC₅₀ values of 151,17; 390,87; 159,617; and 93,886 ppm. The highest level of antioxidant activity is in the residual ethanol fraction. The result of characterization with GC-MS obtained 15 compounds.

Keywords: *Peperomia pellucida* (L.) Kunth, *Phytochemical Test*, *Antioxidant Activity Test*, *DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)*.

PENDAHULUAN

Negara Indonesia kaya akan keanekaragaman hayati, sehingga banyak didapatkan tanaman yang tumbuh dengan subur, hal ini terjadi karena keadaan geografis Indonesia yang memiliki iklim tropis. Keanekaragaman hayati banyak menghasilkan jenis senyawa metabolit sekunder. Senyawa metabolit sekunder meliputi golongan terpenoid, flavanoid, steroid dan alkaloid, yang terkandung dalam jaringan tumbuhan. Tumbuhan tersebut yang dimanfaatkan masyarakat sebagai pengobatan tradisional [1].

Radikal bebas memainkan peran yang penting pada oksidasi lipida. Radikal bebas ini ialah atom atau molekul yang reaktif karena mengandung elektron tidak berpasangan sehingga mudah menyerang struktur tubuh yang mengakibatkan timbulnya beragam penyakit [2].

Untuk menetralkan kerja radikal bebas dibutuhkan antioksidan. Antioksidan adalah senyawa yang dapat mencegah reaksi oksidasi dalam tubuh,

dengan memberi elektronnya pada molekul radikal bebas hal ini yang dapat menghambat terjadinya reaksi berantai disebabkan adanya radikal bebas. Antioksidan secara alami dapat diperoleh dari tumbuh-tumbuhan maupun buah-buahan [3].

Tumbuhan suruhan (*Peperomia pellucida* (L.) Kunth) adalah tumbuhan liar yang hidup di daerah lembab dan tropis yang sesuai dengan iklim di Indonesia sehingga membuat tumbuhan suruhan telah tersebar luas. Suruhan dapat dikonsumsi dan digunakan sebagai pengobatan diantaranya untuk penyakit demam, perut, ataupun pengobatan luar lainnya [4]. Suruhan juga berkhasiat untuk pengobatan mengatasi penyakit asam urat, bisul, nyeri pada rematik jerawat, sakit perut, sakit kepala, luka memar, luka bakar, radang kulit dan abses. Pengujian fitokimia pada tumbuhan suruhan menunjukkan bahwa tumbuhan suruhan mengandung senyawa fenolik dan flavonoid yang digunakan dalam kemoterapi antikanker [5].

Berdasarkan penelitian uji fitokimia dan aktivitas antioksidan dari tumbuhan suruhan (*Peperomia pellucida* (L.) Kunth) menggunakan metode DPPH untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder, aktivitas antioksidan, fraksi paling aktif yang terkandung dalam ekstrak tumbuhan suruhan (*Peperomia pellucida* (L.) Kunth) dan karakterisasi menggunakan GC-MS.

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*, *vortexer*, tabung reaksi, rak tabung reaksi, seperangkat alat destilasi, wadah sampel, gunting dan spektrofotometer *Visible*.

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu tumbuhan suruhan (*Peperomia pellucida* (L.) Kunth), etanol 96%, etil asetat, n-heksana, DPPH (1,1-dipheyl-2-picrylhydrazyl), kuarsetin, *Aquades*, kertas saring, kapas, larutan $\text{HCl}_{(p)}$, asam asetat glasial, larutan HNO_3 , pereaksi Liebermann-Buchard, pereaksi Dragendorff, larutan H_2NO_4 2 N, larutan FeCl_3 1%, serbuk Mg dan *aluminium foil*.

Prosedur Penelitian

Ekstraksi sampel

Sampel tumbuhan suruhan (*Peperomia pellucida* (L.) Kunth) 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 tumbuhan suruhan (*Peperomia pellucida* (L.) Kunth) dan fraksi-fraksinya dipindahkan ke dalam tabung reaksi, kemudian dilarutkan dengan pelarut yang sesuai, ditambahkan serbuk Mg dan 1-2 tetes larutan $\text{HCl}_{(p)}$ dipindahkan ke dalam tabung reaksi dan dididihkan. Apabila pada sampel muncul warna merah, kuning

dan jingga maka menunjukkan hasil positif flavanoid [6].

Uji alkaloid (uji Dragendorff)

Ekstrak kasar tumbuhan suruhan (*Peperomia pellucida* (L.) Kunth) dan fraksi-fraksinya dimasukan ke dalam tabung reaksi dilarutkan dengan pelarut yang sesuai, lalu ditambahkan dengan beberapa tetes 2 – 3 tetes H_2SO_4 2 N di homogenkan dan ditambahkan beberapa 2 – 3 tetes pereaksi Dragendorff (pereaksi Dragendorff dibuat dari campuran $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ dalam asam nitrat dan larutan KI). Hasilnya menunjukkan positif alkaloid ditandai terbentuknya endapan berwarna jingga sampai merah coklat [7].

Uji triterpenoid dan steroid (uji Lieberman-Burchard)

Ekstrak kasar tumbuhan suruhan (*Peperomia pellucida* (L.) Kunth) dan fraksi-fraksinya dipindahkan ke dalam tabung reaksi dan dilarutkan dalam pelarut yang sesuai. Lalu ditambahkan larutan kloroform dan ditambahkan dengan larutan pereaksi Lieberman-Burchard yaitu 19 – 20 tetes larutan CH_3COOH anhidrat dan 1 – 2 tetes larutan $\text{H}_2\text{SO}_4_{(p)}$. 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 tumbuhan suruhan (*Peperomia pellucida* (L.) Kunth) dan fraksi-fraksinya dimasukan 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 1–2 tetes larutan HCl pekat menunjukkan positif saponin [6].

Uji fenolik

Ekstrak kasar tumbuhan suruhan (*Peperomia pellucida* (L.) Kunth) dan fraksi-fraksinya dimasukan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan larutan 3–4 tetes FeCl_3 1% ke dalam tabung tersebut dan dididihkan. Apabila pada sampel muncul warna biru hingga kehitaman menunjukkan positif fenol [6].

Uji 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, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi etanol sisa. Kemudian dilarutkan dengan etanol hingga 20 ml. Dibuat dalam konsentrasi 2000 ppm. Sampel tersebut dihomogenkan dan diletakkan di dalam botol yang gelap. Kemudian disiapkan 4 tabung reaksi untuk ekstrak total, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi etanol sisa dengan diencerkan menjadi beberapa variasi konsentrasi yaitu 10 ppm, 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm dan 200 ppm untuk ekstrak kasar, fraksi n-heksana dan fraksi etil asetat lalu variasi 10 ppm, 50 ppm, 100 ppm dan 150 ppm untuk fraksi etanol sisa menggunakan pipet mikro dan masing-masing konsentrasi dibuat 3 pengulangan.

Pembuatan larutan blanko

Disiapkan 4 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 rutin

Kuarsetin digunakan sebagai pembanding ditimbang sebanyak 1 mg dengan dilarutkan etanol sebanyak 20 mL sehingga menjadi konsentrasi 50 ppm. Kemudian dihomogenkan menjadi beberapa variasi konsentrasi yaitu 0,5 ppm, 1 ppm, 2 ppm, 4 ppm dan disimpan dalam botol gelap dimana masing-masing konsentrasi dengan 3 kali pengulangan.

Uji pendahuluan antioksidan

Disiapkan 6 tabung reaksi masing-masing dan ditambahkan larutan uji dengan konsentrasi 10, 20, 50, 100, 150, 200 ppm, kemudian ditambahkan etanol, larutan uji dihomogenkan menggunakan vortexer. Kemudian diinkubasi selama 30 menit. Hasilnya diamati menggunakan spektrofotometer visible pada $\lambda_{\max}$ 517 nm.

Uji aktivitas antioksidan

Larutan uji dan larutan blanko yang telah disiapkan masing-masing ditambahkan etanol dengan beberapa konsentrasi. Larutan uji dan larutan rutin ditambahkan DPPH sebanyak 1 mL lalu dihomogenkan menggunakan vortexer dan diinkubasi selama 30 menit. Warna larutan diamati dan dibaca serapannya menggunakan spektrofotometer visible pada $\lambda_{\max}$ 517 nm.

Teknik pengambilan data

Aktivitas antioksidan masing-masing sampel dan pembanding ditentukan oleh besarnya hambatan

serapan radikal DPPH dalam perhitungan % inhibisi dengan rumus [1].

$$\% \text{ inhibisi} = 100 - \{ [A_{\text{sampel}} - A_{\text{blanko}}] \times 100 / A_{\text{kontrol}} \} \quad (1)$$

Nilai konsentrasi sampel (ekstrak tumbuhan suruhan (*Peperomia pellucida* (L.) Kunth), fraksi maupun antioksidan larutan rutin) dan hambatan ekstrak (persen inhibisi) diplot 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} [9].

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 pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil uji fitokimia.

Jenis Senyawa	Jenis Ekstrak			
	Ekstra k kasar etanol	Fraksi n-heksana	Fraksi etil asetat	Fraksi etanol sisa
Flavanoid	–	–	–	–
Alkaloid	+	–	+	+
Triterpenoid	+	–	+	+
Steroid	+	+	+	–
Saponin	–	–	–	+
Fenolik	+	–	+	+

Keterangan:

(+) = Mengandung metabolit sekunder

(–) = Tidak mengandung metabolit sekunder

Berdasarkan hasil dari uji fitokimia yang telah diteliti dari tumbuhan suruhan (*Peperomia pellucida* (L.) Kunth) telah diketahui hasil metabolit sekundernya yaitu ekstrak kasar etanol positif mengandung alkaloid, fenolik, triterpenoid dan steroid disini etanol bersifat polar sehingga bisa menarik senyawa polar maupun non polar. Fraksi n-heksana positif mengandung steroid disini n-heksana bersifat non polar sehingga dapat menarik steroid

yang bersifat non polar. Fraksi etil asetat positif mengandung alkaloid, fenolik, triterpenoid, dan steroid disini etil asetat bersifat semi polar sehingga dapat menarik senyawa polar dan non polar. Fraksi etanol sisa positif mengandung alkaloid, fenolik, triterpenoid, dan saponin disini Fraksi etanol sisa bersifat polar sehingga dapat menarik senyawa polar dan non polar. Hasil skrining fitokimia tersebut berbeda-beda pada masing-masing ekstrak karena adanya perbedaan sifat dari setiap masing-masing senyawa metabolit sekunder. Dari masing-masing uji fitokimia yang mengandung senyawa alkaloid dan fenolik berpotensi sebagai antioksidan.

Uji Antioksidan

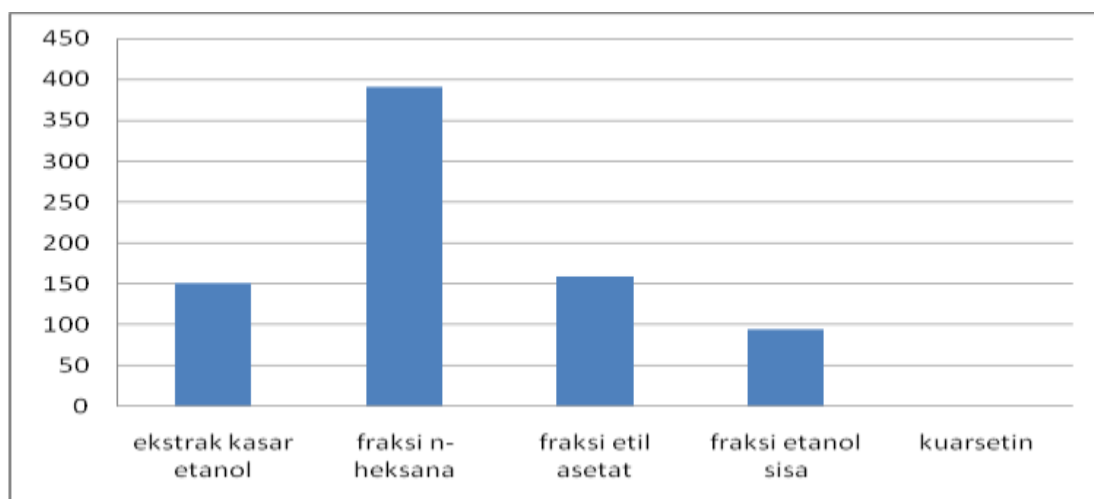
Berdasarkan hasil uji antioksidan dapat menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi dari ekstrak sampel, nilai % aktivitas antioksidannya semakin meningkat yang ditunjukkan dengan semakin rendahnya nilai IC_{50} hal ini dikarenakan semakin tinggi konsentrasi dari ekstrak sampel, donor hidrogen yang diberikan ekstrak sampel pada radikal bebas semakin banyak sehingga menyebabkan aktivitas antioksidannya meningkat yang ditunjukkan dengan semakin rendahnya nilai IC_{50} [10]. Hasil nilai IC_{50} dari ekstrak kasar, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi etanol sisa masing-masing sebesar 151,17; 390,87; 159,617 dan 93,886 ppm . Dari hasil nilai antioksidan untuk ekstrak dan fraksi dapat disimpulkan bahwa fraksi yang lebih aktif adalah fraksi etanol sisa dibandingkan ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana dan fraksi etil asetat, karena hasil yang telah dianalisa

fraksi etanol sisa positif mengandung metabolit sekunder alkaloid, fenolik, triterpenoid dan saponin dimana hasil alkaloid dan fenolik berpotensi sebagai antioksidan. Kemudian nilai antioksidan ekstrak kasar lebih tinggi dibanding fraksi etil asetat tetapi keduanya memiliki metabolit sekunder yang sama yaitu alkaloid, triterpenoid, steroids, dan fenolik. Fraksi kurang aktif yaitu *n*-heksana dimana hasil positif metabolit sekundernya yaitu steroid hal ini sehingga dapat dikatakan bukan merupakan antioksidan yang baik. Pada kuarsetin digunakan sebagai kontrol positif dimana memiliki nilai yang IC_{50} yang lebih kecil dari ekstrak dan fraksi lainnya sehingga memiliki tingkat antioksidan yang lebih besar. Hasil diagram uji antioksidan dapat dilihat pada Gambar 1.

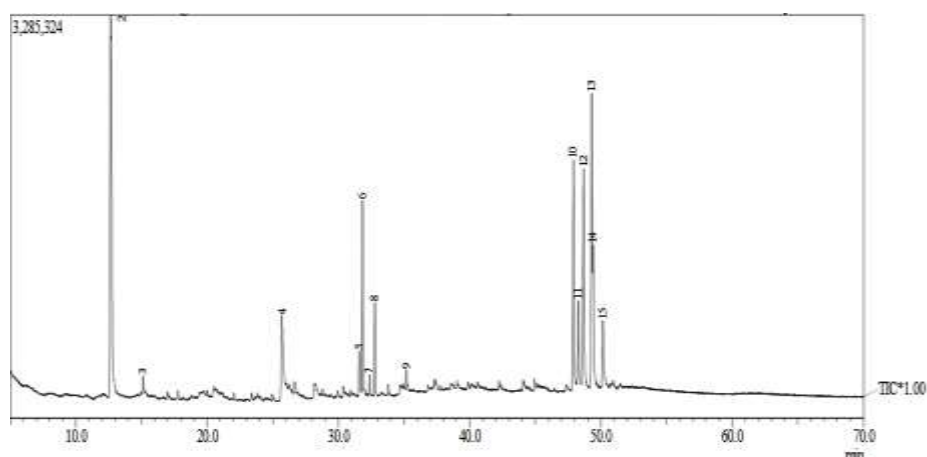
Berdasarkan Gambar 1, dapat dikategorikan dalam daya antioksidan berdasarkan jurnal menurut Molyneux yang menyatakan jika nilai ($IC_{50} < 50$ ppm) maka senyawa tersebut merupakan antioksidan sangat kuat dan aktivitas kuat untuk ($IC_{50} 50-100$ ppm), aktivitas sedang untuk ($IC_{50} 101-150$ ppm) dan aktivitas lemah untuk ($IC_{50} 151-200$ ppm).

Karakterisasi Senyawa Kimia dengan GC-MS

Berdasarkan hasil analisis GC-MS yang telah dilakukan, maka diperoleh informasi komponen senyawa kimia pada fraksi etanol sisa tumbuhan suruhan (*Peperomia pellucida* (L.) Kunth) sebanyak 15 senyawa. Adapun hasil dari analisis GC-MS fraksi etanol sisa tumbuhan suruhan (*Peperomia pellucida* (L.) Kunth) disajikan pada Gambar 2.



Gambar 1. Diagram nilai IC_{50} ada ekstrak kasar etanol, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, fraksi etanol sisa dan kuarsetin.



Gambar 2. Kromatogram fraksi etanol sisa berdasarkan GC-MS.

Tabel 2. Komposisi senyawa kimia fraksi etanol sisa berdasarkan GC-MS.

Peak	Waktu Retensi	Persen Area (%)	Rumus Molekul	Berat Molekul	Nama Senyawa
1	3.355	4.87	$C_6H_{15}BO_3$	146	Boron triethoxide
2	12.655	27.06	$C_6H_{15}O_4P$	182	Ethyl phosphate
3	15.127	0,59	$C_{12}H_{26}$	170	Dodecane
4	25.703	5.88	$C_{12}H_{24}O_2$	200	Dodecanoic acid
5	31.596	1.72	$C_{17}H_{34}O_2$	270	Isopropyl Myristate
6	31.842	5.57	$C_{18}H_{34}$	250	1-Octadecyne
7	32.376	0.60	$C_{20}H_{40}O$	296	3,7,11,15 - Tetramethyl-2-hexadecen-1-ol
8	32.771	3.13	$C_{18}H_{34}$	250	1-Octadecyne
9	35.178	0.61	$C_{18}H_{36}O_2$	284	Hexadecanoic acid, ethyl ester
10	47.903	10.48	$C_{12}H_{18}$	162	Tetracyclo 5.2.1.02,6.03,5 decane, 4,4-dimethyl-
11	48.278	4.43	$C_{15}H_{24}$	204	3a,7-Methano-3aH-cuclopentacyclooctene
12	48.677	12.00	$C_{12}H_{18}$	162	Tetracyclo
13	49.306	13.85	$C_{15}H_{24}$	204	Norbornane, 2-methyl-3-methylene-2-(4-methyl-3-pentenyl)
14	49.413	5.78	$C_{12}H_{18}$	162	Tetracyclo
15	50.145	3.43	$C_{15}H_{24}$	204	Norbornane, 2-methyl-3-methylene-2-(4-methyl-3-pentenyl)

Berdasarkan Tabel 2 dapat diketahui bahwa hasil MS dari fraksi etanol sisa tumbuhan suruhan (*Peperomia pellucida* (L.) Kunth) mengandung 15

senyawa, dimana 15 senyawa yang terdapat dalam fraksi etanol sisa memberi nilai IC_{50} sebesar 93,886

ppm dan nilai IC₅₀ ini lebih kuat dari fraksi-fraksi yang lain.

KESIMPULAN

Uji fitokimia ekstrak etanol mengandung fenolik, triterpenoid, steroid dan alkaloid. Pada fraksi n-heksana mengandung steroid. Pada fraksi etil asetat mengandung fenolik, triterpenoid dan steroid serta pada fraksi etanol sisa mengandung fenolik, triterpenoid dan saponin. Fraksi yang memiliki tingkat antioksidan yang paling baik dari uji peredaman radikal bebas menggunakan metode DPPH adalah fraksi etanol sisa. Senyawa yang terkandung pada fraksi etanol sisa dari tumbuhan suruhan (*Peperomia pellucida* (L.) Kunth) berdasarkan karakterisasi menggunakan GC-MS diperoleh 15 senyawa.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Ahmad S. A., Hakim E. H., Erwin, Syah M. Y., Nario A., Mariko K., Lukman M., Didin M., Hiromitsu T. 2001. Artoindonesianin B suatu senyawa yang bersifat toksik terhadap sel tumor P-388 dari Tumbuhan *Artocarpus altilis*. *Buletin The Indonesian Society of Natural Product Chemistry*. 1:20-27.
- [2] Dalimartha S dan Soedibyo M. 1999. *Awet Muda dengan Tumbuhan Obat dan Diet Suplemen*. Jakarta. Trubus Agriwidya.
- [3] Kumalaningsih S. 2006. *Antioksidan Alami*. Surabaya: Trubus Agrisarana.
- [4] Heyne K. 1987. *Tumbuhan Berguna Indonesia Jilid III*. Jakarta: Yayasan Sarana Wana Jaya.
- [5] Kiselova Y., Ivanova D., Chervenkov T., Gerova D., Galunska B., and Yankova T. 2006. Correlation between the in vitro antioxidant activity and polyphenol content of aqueous extracts from Bulgarian herbs. *Phytother. Res*. 20: 961-965.
- [6] Harborne J. B. 1987. *Metode Fitokimia*. Bandung: ITB.
- [7] Robinson T. 1995. *Kandungan Kimia Organik Tumbuhan Tinggi*. Edisi Keenam. Terjemahan Kosasih Padmawinata. Bandung: ITB.
- [8] Zhu Q. Y., Hackman R. M., Ensunsa J. L., Holt R. R. dan Keen C. L. 2002. Antioxidative activities of Oolong tea. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50:6929–6934.
- [9] Thangaraj P. 2016. *Pharmacological assays of plant-based natural product*, Springer International Publishing. *International Publishing, Switzerland*, 58–61.
- [10] Molyneux P. 2004. The use of the stable free radical diphenyl picrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Journal Science of Technology*. 26(2):211–219.