

Uji Aktivitas Antioksidan dan Penetapan Kadar Flavonoid Total pada Ekstrak Etanol Daun Iler (*Coleus scutellarioides* (L.) Benth.)

Antioxidant Activity Test and Determination of Total Flavonoid Rate in Ethanol Extract of Iler Leaves (Coleus scutellarioides (L.) Benth.)

Yega Segara M¹, Agus Kurniawan^{2*}

^{1,2}Program Studi Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan dan Farmasi, Universitas Gunadarma, Perumahan Taman Puspa, Jl. Taman Puspa, Pasir Gunung Selatan, Cimanggis, Depok, Jawa Barat, 16451, Indonesia

¹E-mail: yegasegaram@student.gunadarma.ac.id; yegasegara3@gmail.com

ABSTRAK

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menetralkan radikal bebas dengan mendonorkan elektron kepada radikal bebas sehingga molekul antioksidan dapat bereaksi dengan radikal reaktif dan menghancurkannya. Senyawa antioksidan dapat berasal dari senyawa yang terkandung dalam tanaman. Senyawa flavonoid sebagai salah satu senyawa polifenol menunjukkan aktivitas antioksidan dengan memberikan atom hidrogen atau elektron pada radikal bebas. Tumbuhan Iler (*Coleus scutellarioides* L. Benth.) merupakan famili dari lamiaceae. Penelitian bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan dan kadar senyawa flavonoid total dari ekstrak etanol daun Iler (*Coleus scutellarioides* L. Benth.). Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode DPPH dengan hasil yang dinyatakan dalam Inhibition Concentration 50% (IC₅₀). Sedangkan pengujian kadar flavonoid total menggunakan metode kolorimetri dengan pereaksi AlCl₃ dengan standar kuersetin. Hasil pengujian aktivitas antioksidan menunjukkan nilai IC₅₀ yang diperoleh untuk ekstrak etanol daun Iler (*Coleus scutellarioides* L. Benth.) sebesar 3,70 µg/mL dan nilai IC₅₀ kuersetin yaitu sebesar 0,57 µg/mL. Kadar flavonoid total pada ekstrak etanol daun Iler (*Coleus scutellarioides* L. Benth.) sebesar 88,917 mg EK/gr sampel. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa daun Iler (*Coleus scutellarioides* L. Benth.) mempunyai potensi sebagai sumber antioksidan alami yang kaya akan senyawa flavonoid.

Kata kunci: antioksidan, Iler (*Coleus scutellarioides* L. Benth.), kadar flavonoid total, IC₅₀.

ABSTRACT

Antioxidant are compounds that can neutralize free radical by donating electron for free radical so that antioxidant molecules can react with reactive radical and destroy them. Antioxidant compound can come from compounds contained in plants. Flavonoid compound as one of the polyphenol compounds show antioxidant activity by donating hydrogen atom or electron to free radical. Iler plant (*Coleus scutellarioides* L. Benth.) is a family of lamiaceae. The research was to determine the antioxidant activity and content of total flavonoid compound of the ethanol extract Iler leaves (*Coleus scutellarioides* L. Benth.). Testing of antioxidant activity was using the DPPH method with the result expressed in the Inhibition Concentration 50% (IC₅₀). Meanwhile, rate of total flavonoid was tested using colorimetric method with AlCl₃ reagent with quercetin standard. The result of antioxidant activity test showed that the IC₅₀ value obtained for the ethanol extract of Iler leaves (*Coleus scutellarioides* L. Benth.) was 3,70 µg/mL. While the IC₅₀ obtained for the quercetin as standard is 0,57 µg/mL. Rate of total flavonoid in the ethanol extract of Iler leaves (*Coleus scutellarioides* L. Benth.) was 88,917 mg EK/gr sample. The results of this study indicate that Iler leaves (*Coleus scutellarioides* L. Benth.) have potential as a source of natural antioxidant that are rich of flavonoid compounds.

Keywords: antioxidant, Iler (*Coleus scutellarioides* L. Benth.), rate of total flavonoid, IC₅₀.

PENDAHULUAN

Radikal bebas berasal dari bahasa latin *radicalis* yaitu merupakan bentuk radikal yang sangat reaktif sehingga dapat menyerang makromolekul dalam tubuh yang dapat menyebabkan kerusakan DNA, protein, lipid dalam membran sel, kanker, dan penyakit kardiovaskular serta neurodegeneratif [1, 2].

Antioksidan merupakan molekul yang dapat digunakan untuk menetralkan radikal bebas dengan cara melengkapi kekurangan elektron yang dimiliki oleh radikal bebas sehingga molekul antioksidan dapat bereaksi dengan radikal reaktif dan menghancurkannya [3]. Antioksidan sintesis seperti butylhydroxyl-toluene, butylhydroxyanisole dan butylhydroquinone yang paling banyak digunakan untuk memperlambat oksidasi lipid, namun antioksidan sintesis seperti ini jarang digunakan sebagai penggunaan farmakologis karena masalah toksikologi. Dengan demikian, penggunaan ekstrak tumbuhan akan menjadi fokus utama yang akan berguna sebagai antioksidan dengan melakukan evaluasi aktivitas antioksidan secara *in vitro* yang dilakukan dengan menggunakan metode pengujian DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) [3].

Senyawa antioksidan alami umumnya berupa senyawa fenolik atau polifenolik berupa golongan flavonoid, turunan asam sinamat, tokoferol, kumarin, ataupun asam-asam organik polifungsional [4]. Kandungan kimia daun Iler (*Coleus scutellarioides* L. Benth) yaitu berupa flavonoid, saponin, polifenol, alkaloid, mineral dan komponen minyak atsiri, dimana ekstrak etanol daun Iler diketahui mengandung salah satu senyawa golongan flavonoid yaitu kuersetin dengan kandungan sebesar 0,05% dimana kuersetin diketahui dapat menghambat kematian sel melalui mekanisme penghambatan peroksidasi lipid, antiinflamasi, dan juga sebagai antiulcer yang berkorelasi dengan aktivitas antioksidan melalui mekanisme penghambatan peroksidasi lipid dan penurunan enzim malondialdehid [4, 5]. Daun Iler juga diketahui mengandung antosianin yang mempunyai efek toksisitas yang rendah, dapat mengurangi resiko berbagai penyakit seperti jantung koroner, stroke, karsinogen, inflamasi, dan juga dapat memperbaiki ketajaman penglihatan dan memperbaiki perilaku pola pikir [6].

Senyawa antioksidan dapat berasal dari senyawa metabolit sekunder seperti

flavonoid dan fenol. Ekstraksi senyawa metabolit sekunder bisa dilakukan secara konvensional yaitu dengan cara maserasi menggunakan etanol. Etanol dipilih sebagai pelarut karena mampu menarik senyawa polar maupun non polar pada suatu simplisia tumbuhan. Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan DPPH karena DPPH dapat dengan mudah larut dalam etanol dan ketika bereaksi dengan agen pereduksi maka akan kehilangan warnanya jika diukur pada panjang gelombang optimum. DPPH dipilih sebagai metode aktivitas antioksidan karena DPPH merupakan senyawa radikal yang lebih stabil dibandingkan dengan metode lainnya serta merupakan metode yang mudah, cepat, dan sensitif untuk pengujian aktivitas antioksidan ekstrak tanaman. Pengujian total flavonoid dilakukan dengan menggunakan metode kolorimetri yaitu penambahan $AlCl_3$ yang mampu membentuk kompleks asam dengan kelompok dihidroksil-orto flavonoid melalui cincin A dan B sehingga dapat menentukan kandungan flavonoid total yang terdapat dalam sampel.

Berdasarkan hal tersebut, penelitian ini meliputi uji aktivitas

antioksidan dan analisis kandungan senyawa flavonoid ekstrak etanol daun Iler (*Coleus scutellarioides* L. Benth) sehingga dapat diharapkan menjadi bagian penting dari penelusuran senyawa antioksidan dari bahan alam.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan meliputi labu destilasi, spektrofotometer UV-Vis, oven, timbangan analitik, mikropipet, kuvet, gelas ukur, tabung reaksi, rak tabung reaksi, batang pengaduk, spatel, water bath, corong, kertas saring, erlenmeyer, spatel, sendok tanduk, dan alat gelas lainnya.

Bahan yang digunakan meliputi simplisia daun Iler (*Coleus scutellarioides* L. Benth) (Balitro, Bogor-Indonesia), pelarut teknis etanol 96% (Harum Kimia, Indonesia) yang didestilasi, DPPH (Sigma Aldrich, Singapore), metanol p.a pereaksi Mayer dan Dragendorff, aquadest, magnesium, HCl (p), amil alkohol, $FeCl_3$ 1%, HCl 2N, anhidrida asetat, kloroform, H_2SO_4 .

Cara Kerja

Determinasi Tumbuhan

Daun Iler (*Coleus scutellarioides* L. Benth) yang digunakan dalam penelitian ini dilakukan determinasi di Pusat Riset Biosistemika dan Evolusi BRIN (Badan Riset dan Inovasi Nasional) Cibinong, Bogor-Indonesia.

Pembuatan Simplisia

Simplisia daun Iler (*Coleus scutellarioides* L. Benth) dibuat dengan beberapa tahan yaitu sortasi basah untuk memisahkan kotoran atau bahan asing lainnya dari bahan simplisia, pencucian dilakukan dengan tujuan untuk menghilangkan kotoran yang melekat pada bahan simplisia, perajangan dilakukan untuk mendapatkan potongan simplisia dengan ukuran yang diinginkan untuk mempercepat proses pengeringan dan menjaga komposisi simplisia, pengeringan dilakukan untuk mendapatkan simplisia yang tidak mudah rusak sehingga dapat disimpan dalam waktu yang lebih lama, dan sortasi kering dilakukan untuk memisahkan bahan pengotor sehingga mendapatkan simplisia yang berkualitas untuk digunakan sebagai bahan uji.

Ekstraksi

Simplisia daun Iler dalam bentuk serbuk sebanyak 250 gram

dimasukkan kedalam wadah. Selanjutnya dimaserasi dengan menggunakan etanol 96% yang sudah didestilasi dengan perbandingan 1 : 10 selama 1 x 24 jam. Setelah 24 jam, simplisia disaring dan ampasnya direndam lagi dengan cairan penyari yang baru. Hal ini dilakukan sebanyak 3-5 kali sampai hasil saringan bening. Hasil penyarian yang didapat dikumpulkan dan diuapkan menggunakan water bath hingga diperoleh ekstrak etanol yang kental. Ekstrak etanol yang diperoleh selanjutnya dilakukan penghitungan rendemen dengan rumus berat ekstrak dibagi berat simplisia awal.

$$\text{Rendemen} : \frac{\text{Massa ekstrak kental (gr)}}{\text{Massa simplisia awal (gr)}} \times 100\%$$

Uji Fitokimia

Identifikasi alkaloid : identifikasi dilakukan dengan menggunakan reagen Mayer dan Dragendorff. Pada reagen Mayer, ekstrak 250 mg ditambahkan 1 mL HCl 2N kemudian ditambahkan reagen Mayer, dikatakan positif apabila terbentuk endapan putih pada larutan. Pada reagen Dragendorff, ekstrak 250 mg ditambahkan 1 mL reagen Dragendorff, dikatakan positif apabila terbentuk endapan berwarna jingga.

Identifikasi flavonoid : identifikasi dilakukan dengan menggunakan ekstrak 250 mg ditambahkan 10 mL aquadest lalu dipanaskan sampai mendidih selama 5 menit, setelah itu larutan ditambahkan 0,1 gram serbuk Magnesium, 1 mL HCl (p), dan 2 mL amil alkohol, setelah itu dilakukan pengocokan dan dibiarkan memisah, dikatakan positif apabila terbentuk warna merah, kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol.

Identifikasi fenolik : identifikasi dilakukan dengan menggunakan ekstrak 100 mg dilarutkan dalam pelarut etanol 96% sebanyak 1 mL, kemudian ditambahkan 2 tetes larutan FeCl_3 1%, dikatakan positif apabila terbentuk warna hijau, merah, ungu, biru atau hitam.

Identifikasi saponin : identifikasi dilakukan dengan menggunakan ekstrak 0,1 gram ditambahkan 1 mL air hangat lalu dikocok selama 30 menit. Setelah itu diamati busa yang timbul dan diukur berapa cm busa yang terbentuk. Dibiarkan selama 5 menit dan jika busanya tidak hilang, ditambahkan HCl 2N, dikatakan positif apabila masih terdapat busa yang konstan.

Identifikasi tanin : identifikasi dilakukan dengan menggunakan ekstrak 0,1 gram ditambahkan 3 tetes FeCl_3 ,

dikatakan positif apabila terbentuk warna biru tua atau hijau kehitaman.

Identifikasi steroid & triterpenoid : identifikasi dilakukan dengan menggunakan ekstrak 0,1 gram ditambahkan 0,5 mL anhidrida asetat, 0,5 mL kloroform dan H_2SO_4 sedikit demi sedikit. Perubahan warna ungu menunjukkan adanya triterpenoid, sedangkan warna hijau biru menunjukkan adanya senyawa steroid.

Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak dengan Metode DPPH

Pembuatan larutan DPPH: sebanyak 10 mg DPPH dilarutkan dalam metanol p.a pada labu ukur 100 mL dan dicukupkan volume hingga batas, sehingga didapatkan larutan DPPH 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Larutan DPPH yang dibuat akan dilakukan optimasi panjang gelombang dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 200-800 nm, kemudian ditentukan panjang gelombang optimumnya yang selanjutnya akan digunakan pada tahap pengukuran sampel.

Pembuatan & pengujian larutan blanko : sebanyak 1 mL metanol p.a dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 1 mL DPPH 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ lalu ditambahkan 2 mL metanol p.a

divortex ad homogen. Selanjutnya larutan tersebut diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit. Selanjutnya diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang optimum. Pengujian dilakukan triplo.

Pembuatan & pengujian larutan sampel ekstrak : sebanyak 10 mg ekstrak kental dilarutkan dalam metanol p.a dengan labu ukur 10 mL sehingga didapatkan larutan induk ekstrak 1000 µg/mL. Dari larutan tersebut dipipet 1 mL dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL lalu dilarutkan dengan metanol p.a hingga batas, sehingga didapatkan larutan ekstrak 100 µg/mL [1]. Pengujiannya dilakukan dengan cara ekstrak 100 µg/mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 1 mL DPPH konsentrasi 100 µg/mL lalu ditambahkan metanol p.a ad 4 mL dan divortex selama 20 detik, dibuat berbagai konsentrasi mulai dari 15, 25, 35, 45, 65, 75 µg/mL. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit. Selanjutnya diukur absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang optimum sehingga didapat persen inhibisi dari tiap larutan sampel. Pengujian ini dilakukan triplo.

Pembuatan & pengujian larutan pembanding kuersetin : sebanyak 10 mg kuersetin ditimbang dan dilarutkan dalam metanol p.a dengan labu ukur 100 mL dan dicukupkan volumenya hingga batas, sehingga diperoleh larutan induk kuersetin 100 µg/mL. Pengujiannya dilakukan dengan cara kuersetin 100 µg/mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 1 mL DPPH konsentrasi 100 µg/mL lalu ditambahkan metanol p.a ad 4 mL dan divortex selama 20 detik, dibuat berbagai konsentrasi mulai dari 2,5 , 5 , 7,5 , 10 , 12,5 , 15 µg/mL. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit lalu diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang optimum sehingga didapat persen inhibisi dari tiap larutan sampel. Pengujian ini dilakukan triplo.

Perhitungan nilai IC_{50} : nilai IC_{50} dihitung berdasarkan persentase inhibisi dari sampel maupun larutan pembanding terhadap radikal DPPH dengan berbagai konsentrasi larutan sampel dengan menggunakan rumus : absorban blanko – absorban sampel dibagi absorban blanko dan dikali 100%. Setelah diperoleh persentase inhibisi dari masing-masing konsentrasi, selanjutnya ditentukan

persamaan $y = a + bx$ dan y adalah presentase inhibisi (%). Aktivitas antioksidan dinyatakan dengan Inhibition Concentration 50% (IC_{50}) yaitu konsentrasi zat uji yang diperlukan untuk menangkap radikal DPPH sebanyak 50% selama 30 menit (operating time) atau jeda waktu yang dibutuhkan oleh bahan uji untuk mereduksi radikal DPPH dengan sempurna. Setelah 30 menit akan didapatkan absorbansi yang konstan. Nilai IC_{50} didapatkan dari nilai x setelah mengganti $y = 50$.

Perhitungan nilai *Antioxidant Activity Index* (AAI) : nilai aktivitas antioksidan juga dapat dihitung dengan menggunakan AAI dengan cara konsentrasi DPPH yang digunakan dalam uji ($\mu\text{g/mL}$) dibagi dengan nilai IC_{50} yang diperoleh ($\mu\text{g/mL}$). Nilai AAI $< 0,5$ merupakan kategori antioksidan lemah, AAI $> 0,5-1$ merupakan antioksidan sedang, AAI $> 1-2$ merupakan antioksidan kuat, dan AAI > 2 merupakan antioksidan yang sangat kuat [7].

Uji Kandungan Flavonoid Total

Kadar flavonoid total ekstrak etanol daun Iler (*Coleus scutellarioides* L. Benth) diukur dengan menggunakan

$AlCl_3$ dan standar yang digunakan yaitu kuersetin.

Pembuatan larutan $AlCl_3$ 10% : larutan $AlCl_3$ 10% dibuat dengan cara 10 g $AlCl_3$ dilarutkan ke dalam 100 mL aquadest.

Pembuatan Natrium Asetat 1 M : dibuat dengan cara ditimbang sebanyak 8,203 g Natrium Asetat dilarutkan ke dalam 100 mL aquadest.

Pembuatan & pengujian larutan kuersetin : sebanyak 10 mg kuersetin dilarutkan dalam 10 mL metanol p.a ad homogen sehingga didapatkan larutan induk 1000 $\mu\text{g/mL}$. Selanjutnya dilakukan pengenceran hingga 100 $\mu\text{g/mL}$, dimana dari larutan induk tersebut dipipet sebanyak 5 mL dimasukkan ke dalam labu ukur 50 mL dan ditambahkan metanol p.a hingga batas dan dikocok ad homogen sehingga diperoleh larutan kuersetin 100 $\mu\text{g/mL}$. Selanjutnya dari larutan kuersetin 100 $\mu\text{g/mL}$ tersebut dibuat konsentrasi yang berbeda yaitu 2,5 , 3 , 3,5 , 4 , 4,5 $\mu\text{g/mL}$. Selanjutnya larutan tersebut diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C, kemudian dilakukan pengukuran menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 415 nm. Pengujian ini dilakukan triplo. Dari

masing-masing larutan konsentrasi tersebut dipipet sebanyak 0,5 mL dicampurkan 1,5 mL metanol p.a dalam tabung reaksi. Kemudian ditambahkan 0,1 mL larutan AlCl_3 10%; 0,1 mL Natrium Asetat 1 M dan 2,8 mL aquadest dan dikocok ad homogen. Kemudian dilakukan pengukuran menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 415 nm. Pengujian ini dilakukan triplo.

Pembuatan & pengujian larutan sampel : larutan ekstrak etanol daun Iler (*Coleus scutellarioides* L. Benth.) dibuat dengan cara ekstrak ditimbang 10 mg dan dilarutkan dalam 10 mL metanol p.a ad homogen sehingga didapatkan larutan ekstrak 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Dipipet sebanyak 0,5 mL dicampurkan dengan 1,5 mL metanol p.a dalam tabung reaksi. Kemudian ditambahkan 0,1 mL larutan AlCl_3 10%; 0,1 mL Natrium Asetat 1 M dan 2,8 mL aquadest. Diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C kemudian dilakukan pengukuran menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 415 nm. Pengujian ini dilakukan triplo. Persamaan linier digunakan sebagai standar untuk kurva kalibrasi dalam perhitungan total flavonoid.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Determinasi & Pembuatan Simplisia

Tanaman uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun Iler (*Coleus scutellarioides* L. Benth.) berbentuk simplisia kering yang diperoleh dari Balai Penelitian Tanama Rempah dan Obat (Balitro, Bogor-Indonesia). Daun Iler ini sebelumnya telah di dteterminasi oleh Pusat Riset Biosistematika dan Evolusi BRIN (Badan Riset dan Inovasi Nasional).

Simplisia kering yang diperoleh kemudian dilakukan sortasi kembali bertujuan untuk memisahkan bahan pengotor lain sehingga didapatkan simplisia kering yang bersih. Kegiatan ini bertujuan untuk menjamin bahwa simplisia benar-benar bebas dari bahan asing [8]. Simplisia kering tersebut diblender sehingga diperoleh simplisia serbuk yang selanjutnya digunakan untuk bahan uji.

Ekstraksi

Proses ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini yaitu maserasi. Maserasi merupakan proses ekstraksi dengan cara merendam serbuk simplisia kedalam suatu pelarut yang sesuai selama beberapa hari dalam suhu kamar

dan terlindung dari cahaya [9]. Prinsip kerja maserasi adalah proses melarutnya zat aktif berdasarkan sifat kelarutannya dalam suatu pelarut (*like dissolved like*). Proses ekstraksi dengan teknik ini dilakukan dengan beberapa kali pengadukan dalam suhu ruang [10]. Keuntungan metode ekstraksi ini yaitu mudah dan tidak memerlukan pemanasan sehingga kecil kemungkinan bahan alam menjadi rusak ataupun terurai [9].

Pelarut yang digunakan dalam maserasi yaitu etanol 96% dikarenakan etanol 96% merupakan pelarut yang lebih selektif, kuman sulit tumbuh, absorpsinya baik, dan mampu melarutkan banyak metabolit sekunder baik polar maupun non polar seperti

alkaloid basa, flavonoid, steroid, glikosa, kurkumin, kumarin, antrakuinon, steroid, dimana dalam penelitian ini dibutuhkan flavonoid sebagai agen antioksidan sehingga etanol cocok digunakan sebagai pelarut dalam penelitian ini [4, 11].

Simplisia diekstraksi dengan menggunakan perbandingan bahan dan pelarut 1 : 10 dalam proses ekstraksi agar dapat menarik seluruh komponen yang dibutuhkan sehingga kemampuan antioksidannya lebih kuat [12]. Setelah proses ekstraksi selesai diperoleh ekstrak kental, maka dihitung rendemen yang didapatkan pada ekstrak daun Iler. Hasil rendemen dari daun Iler adalah 15,815 %.

Tabel 1. Hasil Rendemen Ekstrak Etanol Daun *Coleus scutellarioides* (L.) Benth.

Tanaman <i>Coleus scutellarioides</i> (L.) Benth.	Berat Simplisia (gram)	Berat Ekstrak Kental (gram)	% Rendemen
Daun	250,7906	39,6609	15,815%

Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder

Pengujian ini dilakukan untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder apa saja yang terkandung dalam ekstrak etanol daun Iler (*Coleus scutellarioides* L. Benth.) secara kualitatif. Senyawa

metabolit sekunder yang diuji merupakan alkaloid, flavonoid, fenol, saponin, steroid & triterpenoid, dan tanin. Berdasarkan hasil yang diperoleh, ekstrak etanol daun Iler (*Coleus scutellarioides* L. Benth.) positif

mengandung alkaloid, flavonoid, fenol, dan saponin.

Tabel 2. Hasil Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Etanol Daun Iler *Coleus scutellarioides* (L.) Benth.

No	Senyawa kimia yang diperiksa	Hasil Uji	Keterangan
1	Alkaloid	+	Terdapat endapan warna jingga (Dragendorff)
2	Flavonoid	+	Tidak terdapat endapan putih (Mayer) Terbentuk warna jingga pada lapisan amil alkohol
3	Fenol	+	Terbentuk warna hitam pada larutan
4	Saponin	+	Terdapat busa yang konstan selama > 5 menit
5	Steroid & Triterpenoid	-	Tidak terdapat warna ungu atau hijau biru sebagai parameter
6	Tanin	+	Terbentuk warna hijau kehitaman

Pengujian alkaloid dilakukan dengan menggunakan dua pereaksi yaitu Mayer dan Dragendorff. Sebelum diberikan larutan pereaksi, ekstrak ditambahkan HCl terlebih dahulu untuk memberikan kondisi asam karena alkaloid yang memiliki sifat basa sehingga akan dengan mudah membentuk garam. Kemudian ditambahkan dengan pereaksi Mayer dan Dragendorff untuk melihat endapan yang terbentuk. Pembentukan endapan terjadi karena adanya reaksi kompleks dari reaksi antara nitrogen pada alkaloid yang membentuk ikatan kovalen

koordinat dengan K⁺ yang merupakan ion logam [13].

Pengujian flavonoid dilakukan dengan melihat pemisahan fasa. Sebelum dilakukan uji, ekstrak kental sebanyak 250 mg ditambahkan 10 mL aquadest, selanjutnya dilakukan pemanasan menggunakan hot plate sampai mendidih selama 5 menit, selanjutnya ditambahkan 0,1 g serbuk magnesium, 1 mL HCl (p), dan 2 mL amil alkohol, setelah itu dilakukan pengocokan dan dibiarkan memisah. Pada ekstrak etanol daun Iler memberikan hasil positif yang ditandai

dengan terbentuknya warna merah pada lapisan amil alkohol. Hal ini sesuai dengan beberapa penelitian yang telah dilakukan dimana daun Iler menunjukkan hasil positif ketika diuji flavonoid pada penapisan fitokimia [4, 14].

Pengujian fenol dilakukan dengan menggunakan FeCl_3 , sebelum itu dilarutkan terlebih dahulu ekstrak dengan menggunakan pelarut etanol 96%, lalu kemudian ditambahkan 2-3 tetes FeCl_3 1% yang mana hasil positif ditandai dengan perubahan warna hitam dimana senyawa fenol yang ada didalam ekstrak mereduksi Fe^{3+} menjadi Fe^{2+} dengan indikator perubahan warna tersebut [15].

Pengujian saponin dilakukan dengan menggunakan ekstrak yang dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambah 1 mL air hangat atau panas dan dihomogenkan. Setelah itu diamati busa yang timbul dan diukur berapa cm busa yang terbentuk. Dibiarkan selama 5 menit dan jika busanya tidak hilang, ditambahkan HCl 2N. Apabila masih terdapat busa yang konstan maka menunjukkan hasil yang positif. Hasil pengujian saponin menunjukkan positif karena sampel

membentuk busa yang konstan selama lebih dari 10 menit. Saponin merupakan bentuk glikosida yang mempunyai kemampuan untuk membentuk buih di dalam air yang menunjukkan hasil positif pada uji yang dilakukan [15].

Pengujian steroid dan triterpenoid dilakukan dengan menggunakan ekstrak yang dimasukkan ke dalam tabung reaksi lalu ditambahkan 0,5 mL anhidrida asetat, 0,5 mL kloroform dan H_2SO_4 sedikit demi sedikit. Perubahan warna ungu menunjukkan adanya triterpenoid, sedangkan warna hijau biru menunjukkan adanya senyawa steroid. Hasil pengujian ini menunjukkan hasil negatif karena tidak menunjukkan warna ungu ataupun warna hijau biru melainkan sampel menunjukkan warna hitam. Reaksi perubahan warna pada uji ini dipicu oleh anhidrida asetat yang merupakan reaksi asetilasi gugus -OH.

Pengujian tanin dilakukan dengan menggunakan ekstrak yang dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 3 tetes FeCl_3 , warna biru tua atau hijau kehitaman merupakan indikator bahwa senyawa mengandung tanin. Hasil pengujian ini menunjukkan hasil positif ditandai dengan warna hijau kehitaman. Senyawa tanin adalah senyawa yang

bersifat polar karena adanya gugus OH, oleh karena itu apabila sampel ditambahkan FeCl_3 maka akan terjadi perubahan warna biru tua ataupun hijau kehitaman [16].

Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak

Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan metode DPPH karena bersifat mudah dan relatif murah sehingga metode ini menjadi metode yang paling sering dilakukan untuk mengukur aktivitas antioksidan dari suatu sampel. Senyawa yang digunakan sebagai agen antioksidan akan mengikat radikal bebas dengan cara memberikan gugus hidrogennya ke DPPH sehingga akan menghasilkan perubahan warna dari ungu menjadi kuning sesuai dengan kemampuan reduksinya [17].

Tabel 3. Persen Inhibisi dari Ekstrak Etanol Daun Iler (*Coleus scutellarioides* L. Benth.)

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Inhibisi (%)	IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)
15	26,81	3,70
25	39,24	
35	53,81	
45	68,18	
65	87,61	
75	90,99	

Penentuan aktivitas antioksidan dapat dilihat dari nilai IC_{50} yang merupakan konsentrasi sampel yang dibutuhkan dalam menghambat 50% radikal. Semakin rendah nilai IC_{50} yang didapatkan dari uji, maka semakin tinggi potensi aktivitas antioksidan yang dimiliki oleh sampel uji. Nilai IC_{50} dinyatakan dalam satuan $\mu\text{g/mL}$. Nilai aktivitas antioksidan dikategorikan sebagai berikut : < 10 $\mu\text{g/mL}$ sangat aktif, 10-50 $\mu\text{g/mL}$ aktif, 50-100 $\mu\text{g/mL}$ cukup aktif, 100-250 $\mu\text{g/mL}$ kurang aktif, dan >250 $\mu\text{g/mL}$ tidak aktif [18]. Data yang ditampilkan merupakan persen inhibisi dari masing-masing konsentrasi ekstrak dalam satuan $\mu\text{g/mL}$. Pengukuran terhadap ekstrak etanol daun Iler (*Coleus scutellarioides* L. Benth.) dilakukan pada berbagai konsentrasi yaitu 15, 25, 35, 45, 65, dan 75 $\mu\text{g/mL}$. Dari nilai konsentrasi dan persen inhibisi selanjutnya diperoleh kurva kalibrasi yang sudah diolah di Ms. Excel dengan persamaan regresi linier yang didapatkan dari ekstrak etanol daun Iler (*Coleus scutellarioides* L. Benth.).

Selanjutnya nilai IC_{50} yang diperoleh dari ekstrak etanol daun Iler (*Coleus scutellarioides* L. Benth.) adalah 3,70 $\mu\text{g/mL}$. Dari data tersebut maka dapat dikatakan bahwa aktivitas

antioksidan dari ekstrak etanol daun Iler (*Coleus scutellarioides* L. Benth.) dapat digolongkan sangat aktif karena memiliki nilai $IC_{50} < 10 \mu\text{g/mL}$. tingginya aktivitas antioksidan ini berkaitan dengan kandungan senyawa fenolik dan flavonoid yang terdapat dalam sampel ekstrak etanol daun Iler (*Coleus scutellarioides* L. Benth.)

Selanjutnya dilakukan pengukuran terhadap standar kuersetin untuk dibandingkan aktivitas antioksidannya terhadap sampel.

Tabel 4. Persen Inhibisi dari Standar Kuersetin

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Inhibisi (%)	IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)
2,5	87,52	0,57
5	89,65	
7,5	91,72	
10	92,87	
12,5	94,13	
15	95,42	

Pengukuran terhadap standar kuersetin dilakukan pada berbagai konsentrasi yaitu 2,5 , 5 , 7,5 , 10 , 12,5 , dan 15 $\mu\text{g/mL}$.

Nilai IC_{50} yang diperoleh dari standar kuersetin adalah 0,57 $\mu\text{g/mL}$. Dari data tersebut maka dapat dikatakan bahwa aktivitas antioksidan dari standar kuersetin dapat digolongkan sangat aktif karena memiliki nilai $IC_{50} < 10 \mu\text{g/mL}$. tingginya aktivitas antioksidan ini

berkaitan dengan kandungan senyawa fenolik dan flavonoid yang terdapat dalam standar kuersetin. Nilai aktivitas antioksidan dari standar kuersetin memiliki nilai yang lebih aktif dibandingkan dengan ekstrak etanol daun Iler (*Coleus scutellarioides* L. Benth.).

Penetapan Kadar Flavonoid Total

Pengujian kadar flavonoid total dilakukan untuk menetapkan kadar senyawa flavonoid pada ekstrak etanol daun Iler (*Coleus scutellarioides* L. Benth.) dimana telah dilakukan uji secara kualitatif yaitu fitokimia dengan hasil positif pada flavonoid. Diketahui flavonoid memiliki sifat antioksidan dengan kemampuannya untuk mengkelat radikal bebas secara langsung dengan memberikan atom hidrogen [19].

Nilai kadar flavonoid total dinyatakan dalam Ekuivalen Kuersetin (EK) dengan menggunakan kurva kalibrasi kuersetin sebagai standar. Larutan induk kuersetin dibuat dengan berbagai konsentrasi yaitu 2,5 $\mu\text{g/mL}$, 3 $\mu\text{g/mL}$, 3,5 $\mu\text{g/mL}$, 4 $\mu\text{g/mL}$, 4,5 $\mu\text{g/mL}$. dari nilai serapan dan konsentrasi kemudian diperoleh kurva kalibrasi

kuersetin $y = 0,0681x + 0,0243$ dengan koefisien korelasi (r) sebesar 0,9986.

Setelah diperoleh data kurva kalibrasi, maka dibuat larutan sampel daun Iler (*Coleus scutellarioides* (L.) Benth.) dengan menggunakan konsentrasi yang menghasilkan serapan yang masuk ke dalam rentang. Dibuat larutan induk 1000 $\mu\text{g/mL}$ yang akan digunakan sebagai perhitungan nilai kadar sampel sehingga pada ekstrak etanol daun Iler (*Coleus scutellarioides* (L.) Benth.) diperoleh nilai kadar flavonoid total sebesar 88,917 mg EK/gr sampel.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun Iler (*Coleus scutellarioides* L. Benth.) metode maserasi memiliki aktivitas antioksidan terhadap senyawa radikal bebas DPPH dengan nilai IC_{50} sebesar 3,70 $\mu\text{g/mL}$ dan kadar flavonoid total ekstrak etanol daun Iler (*Coleus scutellarioides* L. Benth.) sebesar 88,917 mg EK/gr sampel.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis sangat berterima kasih kepada Allah SWT yang telah memberikan karunianya dalam mengerjakan penelitian ini, juga tak lupa kepada orang tua yang telah senantiasa memberi dukungan dan masukan dan kepada rekan-rekan sivitas akademika yaitu dosen pembimbing bapak Agus Kurniawan S.Si., M. Farm. & rekan seperjuangan serta pasangan saya yaitu Wulan Anjenita Kurniati yang selalu memberikan dukungan, doa dan masukan kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan penelitian dengan baik.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Lestari K. *Uji Aktivitas Antioksidan Dari Fraksi Ekstrak Teraktif Kulit Batang Garcinia latissima dengan Metode DPPH dan FRAP*. Universitas Indonesia, 2017.
- [2] Nur Sa'adah A. *Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Dari Ekstrak Teraktif Daun Garcinia latissima Miq. dengan Metode DPPH dan FRAP*. Universitas Indonesia, 2017.
- [3] Lü JM, Lin PH, Yao Q, et al. Chemical and molecular mechanisms of antioxidants:

- Experimental approaches and model systems. *J Cell Mol Med* 2010; 14: 840–860.
- [4] Moelyono MW, Uswatun A, Rochjana H, et al. Aktivitas Antioksidan Daun Iler *Plectranthus scutellarioides* (L.) R. Br. *J Farm Indones* 2016; 8: 271–276.
- [5] Moektiwardoyo M, Levita J, Syafrudin P, et al. The determination of quercetin in *Plectranthus scutellarioides* (L.) R.Br. leaves extract and its In Silico Study on Histamine H4 Receptor Penentuan kuersetin dari ekstrak metanol daun jawer katok dan studi in siliconya pada reseptor histamin H4. *Maj Farm Indones* 2011; 22: 2011.
- [6] Syukri, Santoni A, Zein R, et al. Jurnal Kimia Unand Volume 2 Nomor 2. *J Kim Univ Andalas* 2013; 2: 44–50.
- [7] Ikhlas NUR. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Herba Kemangi (*Ocimum americanum* Linn) dengan Metode DPPH (2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil).
- [8] Ningsih IY. Penanganan pasca panen. *Biol Pharm Jember Univ.*
- [9] Susanty S, Bachmid F. Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi Dan Refluks Terhadap Kadar Fenolik Dari Ekstrak Tongkol Jagung (*Zea mays* L.). *J Konversi* 2016; 5: 87.
- [10] Departemen Kesehatan RI. Parameter Standar Umum Ekstrak Tanaman Obat. *Departemen Kesehatan RI* 2000; 1: 10–11.
- [11] Wasiah A. Uji Efikasi Ekstrak Daun Iler (*Coleus scutellarioides* Linn. Benth) Sebagai Plant-Based Repellent Terhadap *Aedes aegypti*. *Skripsi*.
- [12] Handayani H, Sriherfyna FH. Ekstraksi Antioksidan Daun Sirsak Metode Ultrasonic Bath (Kajian Rasio Bahan : Pelarut Dan Lama Ekstraksi) Antioxidant Extraction of Soursop Leaf with Ultrasonic Bath (Study of Material : Solvent Ratio and Extraction Time). 2016; 4: 262–272.
- [13] Wea KCS. *Efek Antiinflamasi Ekstrak Etil Asetat Daun Iler (Coleus atropurpureus (L.) Benth) Pada Tikus Jantung Terinduksi Karagenin*. Sanata Dharma University, 2022.

- [14] Mutiatikum D, Alegantina S, Astuti Y. Standarisasi simplisia dari buah miaya (*Plectranthus seutellaroides* (L)) yang berasal dari 3 tempat tumbuh Manado, Kupang dan Papua. *Bul Penelit Kesehatan* 2010; 38: 1–16.
- [15] Fajriaty I, I H H, Andres, et al. Skrining Fitokimia Lapis Titpis Dari Ekstrak Etanol Daun Bintangur (*Calophyllum soulattri* Burm . F .). *J Pendidik Inform dan Sains* 2018; 7: 54–67.
- [16] Sulistyarini I, Sari DA, Wicaksono TA. Skrining Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder Batang Buah Naga (*Hylocereus polyrhizus*). *J Ilm Cendekia Eksakta* 2019; 56–62.
- [17] Kurniati DA. *Uji Aktivitas Antioksidan Dan Penetapan Kadar Fenol Serta Flavonoid Total Pada Ekstrak Etanol Daun Dan Batang Pothos tener Wall.* Indonesia University, 2020.
- [18] Phongpaichit S, Nikom J, Rungjindamai N, et al. Biological activities of extracts from endophytic fungi isolated from *Garcinia* plants. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2007; 51: 517–525.
- [19] Procházková D, Boušová I, Wilhelmová N. Antioxidant and prooxidant properties of flavonoids. *Fitoterapia* 2011; 82: 513–523.