

JURNAL KIMIA UNAND

ISSN No. 2303-3401

Volume 10 Nomor 2

Mei, 2021

*Media untuk mempublikasikan
hasil-hasil penelitian seluruh
dosen dan mahasiswa Kimia
FMIPA Unand*

Jurusan Kimia

Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Universitas Andalas

Tim Editorial Jurnal Kimia Unand

Emil Salim, M.Sc, M.Si
Dr. Syukri
Prof. Dr. Adlis Santoni
Prof. Dr. Rahmiana Zein
Prof. Dr. Syukri Arief
Dr. Mai Efdi

Alamat Sekretariat

Jurusan Kimia FMIPA Unand
Kampus Unand Limau Manis, Padang – 25163
PO. Box 143, Telp./Fax. : (0751) 71 681
Website Jurnal Kimia Unand: www.jurnalsain-unand.com
Corresponding E-mail: salim_emil17@yahoo.com
syukri@fmipa.unand.ac.id

DAFTAR ISI

JUDUL ARTIKEL	Halaman
1. PENENTUAN KADAR GLUKOSA DAN SUKROSA DALAM BIT (<i>Beta vulgaris</i> L.), SORGUM (<i>Sorghum bicolor</i> L. Moench) DAN STEVIA (<i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni) SEBAGAI ALTERNATIF PEMANIS ALAMI DENGAN METODE LUFF SCHOORL Refilda, Riri Aulia Putri, Yefrida	1-5
2. PEMANFAATAN ZEOLIT ALAM <i>CLINOPTILOLITE-Ca</i> SEBAGAI PENDUKUNG KATALIS ZnO UNTUK MENDEGRADASI ZAT WARNA <i>METHYL ORANGE</i> DENGAN METODA FOTOLISIS Zilfa, Rahmiana Zein, Teti Nurhayatul Rahmi	6-11
3. UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN ANTIBAKTERI SERTA KANDUNGAN FENOLIK TOTAL DARI EKSTRAK DAUN PACING (<i>Cheilostus speciosus</i> (J. Koenig) C.D Specht) Adlis Santoni, Mai Efdi, Lucia Aliffia	12-19
4. EFEK EKSTRAK ETANOL DARI MIKROALGA <i>Scenedesmus dimorphus</i> SEBAGAI ANTI-OBESITAS PADA MENCIT PUTIH (<i>Mus musculus</i> L.) Armaini, Sumaryati Syukur, Ambar Choirunisa	20-26
5. IDENTIFIKASI METABOLIT SEKUNDER DAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DARI DAUN SALAM (<i>SYZYGIUM POLYANTHUM</i> (WIGHT) WALP.) Norman Ferdinal, Afrizal, Indria Navira	27-33
6. PENENTUAN KANDUNGAN FENOLIK TOTAL, UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN SITOTOKSIK EKSTRAK HEKSANA DAN ETIL ASETAT BATANG SEMU TUMBUHAN BUNGA BANGKAI (<i>Amorphophallus paeoniifolius</i> (Dennst.) Nicolson) Bustanul Arifin, Suryati, Sandri Widia Oksadela	34-42
7. PENENTUAN KANDUNGAN FENOLIK TOTAL, UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN SITOTOKSIK EKSTRAK HEKSANA DAN ETIL ASETAT DAUN TUMBUHAN BUNGABANGKAI (<i>Amorphophallus paeoniifolius</i> (Dennst.) Nicolson) Bustanul Arifin, Desilia Putri Revani, Suryati	43-49

PENENTUAN KADAR GLUKOSA DAN SUKROSA DALAM BIT (*Beta vulgaris* L.), SORGUM (*Sorghum bicolor* L. Moench) DAN STEVIA (*Stevia rebaudiana* Bertoni) SEBAGAI ALTERNATIF PEMANIS ALAMI DENGAN METODE LUFF SCHOORL

Refilda*, Riri Aulia Putri, Yefrida

Laboratorium Kimia Analitik Terapan, Jurusan Kimia, FMIPA, Universitas Andalas
Kampus Limau Manis, Padang, 25163, Indonesia
E-mail: refilda@sci.unand.ac.id

Abstrak: Gula merupakan salah satu sumber energi atau tenaga yang dibutuhkan oleh tubuh manusia. Gula memiliki kandungan kalori yang tinggi serta penggunaan gula tebu yang terlalu sering dapat mengakibatkan karies gigi, serta konsumsi gula atau sukrosa yang berlebihan juga dapat memicu penyakit diabetes dan obesitas. Hal ini dikarenakan dalam 1 gram gula pasir atau gula sukrosa mengandung 4 kalori. Sehingga perlu dilakukan penelitian-penelitian untuk mencari sumber pemanis lain sebagai alternatif pengganti gula tebu. Tanaman bit, sorgum dan stevia memiliki peluang sebagai alternatif pemanis alami rendah kalori pengganti gula tebu. Pada penelitian ini dilakukan penentuan kandungan glukosa dan sukrosa yang terdapat pada sampel bit, sorgum dan stevia dengan metode luff schoorl, didapatkan kadar glukosa bit, sorgum dan stevia masing-masing sebesar 0,50 %; 0,47 %; 0,55 %; dan kadar sukrosa masing-masing 1,11 %; 1,18 %; 1,23%. Dari ketiga sampel ini dapat dilihat bahwa stevia memiliki kadar glukosa dan sukrosa yang lebih tinggi dibandingkan dengan sampel bit dan sorgum. Namun, kadar ini lebih kecil dari kadar mutu gula berdasarkan SNI 01-2892-1992 yaitu sebesar 2,1% dan 3,1 %.

Kata Kunci : Bit, sorgum, stevia, metode luff school.

1. Pendahuluan

Pada industri makanan dan minuman untuk menarik konsumen para produsen sering kali meningkatkan beberapa faktor penting salah satunya adalah cita rasa pada produk nya. Rasa manis adalah salah satu cita rasa yang paling digemari oleh sebagian besar konsumen. Rasa manis pada makanan didapatkan dari gula. Gula merupakan salah satu jenis karbohidrat yang dan lebih cepat diserap kedalam tubuh dibandingkan dengan karbohidrat lainnya¹.

Karbohidrat memegang peranan penting dalam alam karena merupakan sumber energi utama bagi manusia dan hewan yang harganya relatif murah. Semua karbohidrat berasal dari tumbuh-tumbuhan. Sukrosa atau sakarosa dinamakan juga gula tebu atau gula bit. Secara komersial gula pasir yang 99% terdiri atas sukrosa dibuat dari kedua macam bahan makanan tersebut melalui proses penyulingan dan kristalisasi. Sukrosa juga terdapat di dalam buah, sayuran dan madu. Bila dicernakan atau di hidrolisis, sukrosa pecah menjadi glukosa dan fruktosa, yang disebut gula invert².

Bahan pemanis alami memiliki nilai kalori tinggi dan mudah dicerna tubuh diantaranya gula stevia dan gula bit. Gula pasir dari ekstrak tanaman tebu merupakan pemanis alami yang sampai saat ini banyak dikonsumsi oleh masyarakat. Gula pasir merupakan salah satu dari sembilan bahan pokok yang kebutuhannya setiap tahun selalu meningkat. Pada tahun 2015, total konsumsi gula di Indonesia mencapai 5,7 juta ton (gula kristal putih dan gula rafinasi), sedangkan total produksi gula di Indonesia sekitar 2,5 juta ton, dan jumlah ini hanya dapat memenuhi 43% kebutuhan gula nasional, sehingga untuk memenuhi kebutuhan tersebut maka pemerintah melakukan impor gula. Impor gula yang tinggi dan produksi yang berfluktuasi menyebabkan perlunya alternatif lain untuk mensubstitusi gula tebu³.

Selain karena adanya impor gula, kandungan kalori dalam sukrosa juga tinggi, sehingga perlu dilakukan penelitian-penelitian untuk mencari sumber pemanis lain sebagai

alternatif pengganti gula tebu.

Tanaman stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) memiliki peluang sebagai alternatif pemanis alami rendah kalori pengganti gula. Salah satu pemanfaatan tanaman stevia yaitu diolah menjadi pemanis alami instan dari daun stevia. Menurut hasil Penelitian Aminah semakin tinggi konsentrasi stevia yang ditambahkan pada makanan mengakibatkan semakin tingginya tingkat kemanisan yang dihasilkan⁵.

Sorgum sebagai sumber pati dapat dijadikan bahan baku industri dekstrin, gula, bioetanol, farmasi, dan kosmetik. Pati sorgum dapat dimanfaatkan sebagai bahan pengisi, pengental makanan, dapat dibuat bubur, biskuit, dan olahan sejenisnya⁶.

Bit merah kaya akan berbagai kandungan vitamin B yaitu vitamin B1, B2, B3 dan B6. Kandungan gizi utama bit merah adalah asam folat, serat dan gula⁷.

Salah satu cara penentuan monosakarida secara kimia adalah dengan menggunakan metode Luff Schoorl. Pada metode ini, yang ditentukan adalah kuprioksida dalam larutan sebelum direaksikan dengan gula pereduksi (titrasi blanko) dan sesudah direaksikan dengan sampel gula reduksi (titrasi

2. Metodologi Penelitian

Penetapan kadar glukosa dan sukrosa pada sampel bit, sorgum dan stevia dilakukan dengan metode Luff Schoorl. Sampel bit diambil di pasar daerah Padang, sorgum diambil di Payakumbuh dan stevia di ambil di siteba Padang.

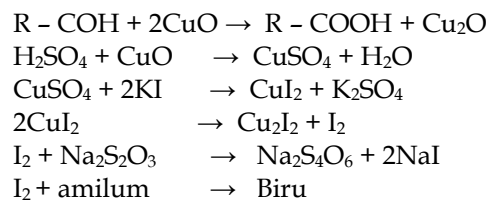
2.1. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah oven, furnace, desikator, blender, neraca analitik, cawan penguap, gegep, pemanas listrik, termometer, stopwatch dan alat-alat gelas yang biasa digunakan di laboratorium.

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah bit (*Beta vulgaris* L.), sorgum (*Sorghum bicolor* L.Moench) dan stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni), kertas saring, akuades, larutan kanji, larutan H₂SO₄, larutan KI, K₂Cr₂O₇, larutan (NH₄)₂HPO₄, larutan Na₂S₂O₃,

sampel). Pada penentuan gula dengan metode Luff Schoorl ini terjadi reaksi mula-mula kuprioksida yang ada di dalam reagen akan membebaskan iod dari garam kalium iodida. Banyaknya iod yang dibebaskan ekuivalen dengan banyaknya kuprioksida. Banyaknya iod dapat diketahui melalui titrasi dengan menggunakan natrium tiosulfat. Diperlukan indikator amilum untuk menentukan titik akhir titrasi. Titik akhir titrasi ditandai dengan perubahan warna larutan dari yang awalnya berwarna biru menjadi putih.

Reaksi yang terjadi dalam penentuan gula dengan metode Luff Schoorl sebagai berikut:⁸



Tujuan dari Penelitian ini adalah menentukan kadar glukosa dan sukrosa pada bit, sorgum dan stevia menggunakan metode Luff Schoorl yang ditetapkan dalam SNI 01-2891-1992.

larutan timbal asetat, dan larutan Luff Schoorl.

2.2. Penentuan Kadar Air dalam Sampel

Masing-masing sampel dipotong kecil dimasukkan kedalam cawan penguap yang telah ditimbang terlebih dahulu, ditimbang sampel sebanyak 5 gram. Kemudian sampel dioven pada suhu 105°C selama 3 jam dan didinginkan didalam desikator selama 15 menit, kemudian ditimbang. Sampel dikeringkan lagi sampai didapatkan massa yang konstan.

2.3. Pembuatan Larutan Sampel

Sebanyak 2 g sampel dimasukkan kedalam labu ukur 250 mL lalu ditambahkan air suling dan digoyang. Ditambahkan 5 mL larutan timbal asetat setengah basa dan digoyang, diteteskan tetes demi tetes larutan (NH₄)₂HPO₄ 10% hingga terbentuk endapan putih. Setelah itu labu ukur digoyang dan ditepatkan dengan akuades sampai tanda batas, lalu dikocok 12 kali, didiamkan dan disaring. Filtrat yang diperoleh

digunakan sebagai larutan sampel dalam penetapan glukosa dan sukrosa.

2.4. Penentuan Kadar Glukosa

Dipipet 10 mL larutan sampel dan dimasukkan kedalam labu didih. Larutan sampel ditambahkan 15 mL air suling dan 25 mL larutan Luff Schoorl serta beberapa butir batu didih, setelah itu dihubungkan dengan pendingin tegak, dipanaskan di atas pemanas listrik, dan usahakan sudah mulai mendidih dalam waktu 3 menit, dipanaskan terus selama 10 menit. Kemudian labu didih diangkat dan segera didinginkan dengan aliran air. Kemudian tambahkan 10 mL larutan KI 20%, larutan H₂SO₄ 25% dengan hati-hati kedalam labu didih. Kemudian lakukan titrasi dengan larutan Natrium tiosulfat 0,1 N dan ditambahkan larutan kanji 0,5% sebagai indikator. Kerjakan penetapan blanko dengan 25 mL air dan 25 mL larutan Lufft Schoorl.

2.5. Penentuan Kadar Sukrosa

Dipipet 50 mL larutan sampel ke dalam labu didih kemudian tambahkan 25 mL HCl 25% pasang termometer dan lakukan hidrolisis di atas penangas air. Apabila suhu mencapai 68 °C–70 °C suhu dipertahankan 10 menit tepat, angkat dan bilas termometer dengan air lalu dinginkan. Kedalam labu didih ditambahkan NaOH 30% sampai netral (warna merah jambu) dengan indikator fenoftalein, tepatkan sampai tanda batas dengan air suling kocok 12 kali maka diperoleh larutan hasil hidrolisis sampel. Larutan hasil hidrolisis dipipet 10 mL dan masukkan kedalam labu didih. Tambahkan 15 mL air suling dan 25 mL larutan Luff serta beberapa butir batu didih, hubungkan labu didih dengan pendingin tegak dan panaskan diatas penangas listrik, usahakan dalam waktu 3 menit sudah harus mulai mendidih. Panaskan terus selama 10 menit. Angkat dan segera dinginkan dengan air mengalir. Setelah dingin tambahkan 10 mL larutan KI 20% dan 25 mL H₂SO₄ 25% dengan hati-hati. Lalu titrasi dengan larutan natrium tiosulfat (Na₂S₂O₃) dari warna kuning gading sampai putih susu dengan larutan kanji 0,5% sebagai indikator, lakukan juga penetapan blanko dengan 25 mL larutan Luff, kerjakan seperti di atas.

3. Hasil dan Pembahasan

3.1. Kadar Air dalam Sampel Bit, Sorgum dan Stevia

Penentuan kadar air dilakukan dengan metode pengeringan menurut *Assosiation of Official Analytical Chemist (AOAC)* dimana sampel dikeringkan dalam oven pada suhu 105°C sampai diperoleh berat konstan dari sampel⁹. Hal ini bertujuan untuk menguapkan air yang terkandung didalam sampel. Kadar air yang diperoleh dalam sampel bit, sorgum dan stevia dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Kadar Air dalam Sampel

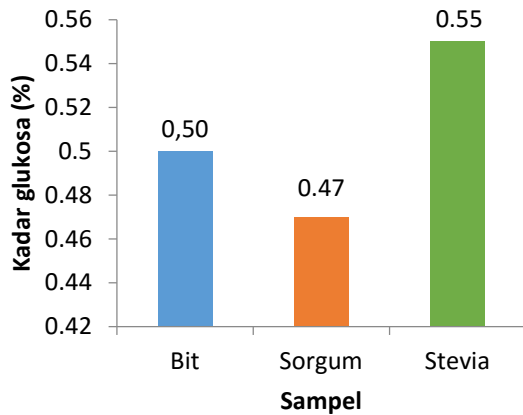
No.	Sampel	Kadar Air dalam Sampel (%)
1	Bit	92,16
2	Sorgum	89,64
3	Stevia	84,09

Berdasarkan data yang diperoleh kadar air sampel bit (*Beta vulgaris* L.) memiliki kadar air paling tinggi.

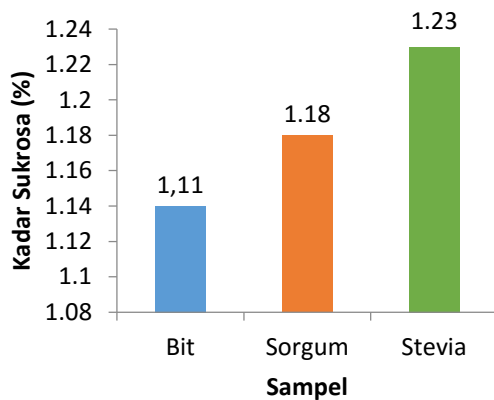
Kadar air merupakan faktor yang paling mempengaruhi kemunduran mutu bahan pangan. Lebih lanjut dikatakan bahwa kemunduran bahan pangan meningkat sejalan dengan meningkatnya kadar air bahan pangan¹⁰. Perbedaan tempat pengambilan sampel membuat kadar air suatu tanaman dapat berbeda juga. Pengujian kadar air dilakukan sampai diperoleh berat konstan untuk menghilangkan molekul air pada sampel tanaman sehingga dapat diperoleh berat kering dari masing-masing sampel tersebut¹¹.

3.2. Kadar Glukosa dan Sukrosa dalam Sampel Bit, Sorgum dan Stevia

Kadar glukosa dan sukrosa yang terkandung dalam sampel Bit, Sorgum dan stevia dapat dilihat pada Gambar 1. dan Gambar 2.



Gambar 1. Kadar Glukosa dalam sampel Bit, Sorgum dan Stevia



Gambar 2. Kadar Sukrosa dalam sampel Bit, Sorgum dan Stevia

Berdasarkan data yang diperoleh kadar glukosa sampel bit, sorgum dan stevia berturut-turut adalah 0,50 %, 0,47 % dan 0,55 % dan kadar sukrosa berturut-turut adalah 1,11 %, 1,18 %, 1,23 %. Sampel Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) memiliki kadar glukosa dan sukrosa paling tinggi.

Pada metode Luff Schoorl ini senyawa karbohidrat yang terdapat pada sampel akan dipecah menjadi gula-gula sederhana (monosakarida) dengan bantuan asam, yaitu HCl, dan panas. Kemudian monosakarida yang terbentuk dianalisis dengan metode Luff Schoorl. Prinsip analisis dengan metode Luff Schoorl yaitu reduksi Cu^{2+} menjadi Cu^{1+} oleh monosakarida. Monosakarida bebas akan mereduksi larutan basa dari garam logam menjadi bentuk oksida atau bentuk bebasnya.

Kelebihan Cu^{2+} yang tidak tereduksi kemudian dikuantifikasi dengan titrasi iodometri (SNI 01-2891-1992).

Kelebihan CuO akan direduksikan dengan KI berlebih, sehingga dilepaskan I_2 . I_2 yang dibebaskan tersebut dititrasi dengan larutan $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ¹².

Hasil penelitian tentang kadar sukrosa pada buah bit yang dilakukan oleh Dolores et.al. (1998) di Madrid, Spanyol yaitu sebesar 2,86 % ¹³, hasil penelitian tentang kandungan sukrosa batang sorgum manis oleh Cengiz et.al. (2018) di provinsi Antalya, Turki yaitu sebesar 7,08–14,02 % ¹⁴. Audilakshmi et.al., (2010) menentukan sukrosa sebagai komponen dominan dan kadarnya bervariasi antara 7,7 dan 18,1% sehingga menunjukkan kesamaan dengan penelitian lain dalam hal komponen sukrosa ¹⁵. Dapat dilihat dari ketiga penelitian lain tentang sukrosa pada sampel di dapat kadar sukrosa yang lebih tinggi dibandingkan dengan penelitian dengan metoda Luff Schoorl ini.

Dalam penelitian Cengiz et.al. (2018), sukrosa ditentukan sebagai komponen dominan, glukosa dan fruktosa ditemukan memiliki nilai yang sama satu sama lain. Nan dan Best (1994) melaporkan bahwa komposisi gula terdiri dari sukrosa, glukosa dan fruktosa ¹⁶. Penanaman bit, sorgum dan stevia dapat disesuaikan dengan kondisi lingkungan, pupuk kandang dan kebutuhan air, dan daerah tanam memiliki rendemen gula/etanol yang lebih tinggi. Seperti halnya kadar gula berubah dengan praktik budaya, struktur genetik dalam kadar gula ¹⁷.

4. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa kandungan glukosa yang terdapat pada sampel bit, sorgum dan stevia masing-masing sebesar 0,50%; 0,47%; 0,55%; dan kandungan sukrosa masing-masing 1,11 %; 1,18 %; 1,23%. Dari ketiga sampel ini dapat dilihat bahwa kadar glukosa masing-masing sampel tidak jauh berbeda begitupun dengan kadar sukrosa dari masing-masing sampel, tetapi sampel stevia memiliki kadar glukosa dan sukrosa yang lebih tinggi dibandingkan dengan sampel bit dan sorgum.

Referensi

1. Yeung. C. A., Goodfellow. A., Flanagan. L. The Truth About Sugar. Dental Update 2015; 42: 507-512.
2. Almatsier, S. Prinsip Dasar Ilmu Gizi. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama. 2001.
3. Chandra, A. Studi Awal Ekstraksi Batch Daun Stevia Rebaudiana Dengan Variabel Jenis Pelarut Dan Temperatur Ekstraksi. Proseding Issn 2407-8050. 2015.
4. Aminah, S., Tezar R, dan Ali Bain. Optimasi Pemanfaatan Stevia Sebagai Pemanis Alami pada Sari Buah Belimbing Manis. Jurnal Agriplus, 2008, Vol. 18, No. 3, Hal. 179-186.
5. Sumarno, Djoko S.D, Mahyuddin, Hermanto S. Sorgum: Inovasi teknologi dan pengembangan. IAARD Press. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian Kementerian Pertanian, Jakarta. 2013.
6. Latorre, M. E., Bonelli, P. R., Rojas, A. M., Dan Gerschenson, L. N. Microwave Inactivation Of Red Beet (Beta Vulgaris L. Var. Conditiva) Peroxidase And Polyphenoloxidase And The Effect Of Radiation On Vegetable Tissue Quality. Journal Of Food Engineering. 2012,109 (1): 676-684.
7. Badan Standarisasi Nasional. Cara Uji Gula SNI 01-2892-1992. Jakarta: Badan Standardisasi Nasional. 1992.
8. Sudarmadji. Analisa Bahan Makanan dan Pertanian. Yogyakarta: Liberty Yogyakarta. 1996, Halaman 80-81.
9. AOAC: Official Methods of Analytical of the Association of Official Analytical. Chemst, Washington, 1995.
10. Justice, O. L and L. N. Bass. Principles and Practices of Seedv Storage. Castle housePublic.Ltd. P 289. 1979.
11. Agus Budi Purwanto, Octavia Wulandari. "Pengaruh Motivasi, Kompensasi Dan Lingkungan Kerja Terhadap Produktivitas Kerja Karyawan PT Pelangi di Mranggen Demak". Buletin Bisnis dan Manajemen, 2016 Volume 0, No. 01.No ISSN: 2442-885X, Hal 10-26.
12. Zuhairiah Nst, Ernala Br Ginting, Dyna Grace Romatua, Firdaus Fahdi. Identifikasi Kadar Glukosa Dan Sukrosa Pada Madu Hutan .Universitas Sari Mutiara Indonesia, Jl. Kapten Muslin No. 79 Helvetia Medan. 2019.
13. M. Dolores RodrÃ³iguez-Sevilla*, M. JoseÃ Villanueva-SuaÃrez, Araceli Redondo-Cuenca . *Effects of processing conditions on soluble sugars content of carrot, beetroot and turnip*; the International Journal of Engineering and Science (IJES). Page 21. 1998.
14. Cengiz Erdurmus , Celal Yucel , Orcun Cinar , Arzu Bayır Yegin , Mehmet Oten, Batı Akdeniz. *Bioethanol And Sugar Yields Of Sweet Sorghum* . Agricultural Research Institute, Antalya, Turkey. 2018
15. Audilakshmi, S., Mall, A. K., Swarnalatha, M. & Seetharama, N. *Inheritance of sugar concentration in stalk (brix), sucrose content, stalk and juice yield in sorghum*. Biomass & Bioenergy, 34, 813-820. 2010.
16. Nan, L., Best, G. and Neto, C.C.D.C. *Integrated energy systems in China - The cold Northeastern region experience. Part I. An integrated energy system for the cold Northeastern region of China*. Food and Agriculture Organization of The United Nation (FAO), Rome. 1994.
17. Hunter, E.L. and I.C. Anderson. *Sweet sorghum*. In J. Janick (Eds.) *Horticultural reviews*. Vol. 21 Department of Agronomy Iowa State University. John willey & Sons.Inc. 1997, pp 73-104.

PEMANFAATAN ZEOLIT ALAM *CLINOPTILOLITE-Ca* SEBAGAI PENDUKUNG KATALIS ZnO UNTUK MENDEGRADASI ZAT WARNA *METHYL ORANGE* DENGAN METODA FOTOLISIS

Zilfa¹, Rahmiana Zein², Teti Nurhayatul Rahmi^{1,2,*}

¹Laboratorium Analisis Terapan, Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Andalas

²Laboratorium Kimia Lingkungan, Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Andalas
Kampus Limau Manis, Padang, 25163, Indonesia

*Email: tetnurhayatulrahmi@gmail.com

Abstrak: Penelitian mengenai degradasi zat warna *Methyl Orange* dan *Rhodamine B* secara simultan dengan metoda fotolisis menggunakan katalis ZnO/zeolit bermaksud untuk mengurangi kadar zat warna *Methyl Orange* dan *Rhodamine B* yang diketahui berbahaya bagi lingkungan dan kesehatan. Pada penelitian ini digunakan zat warna *Methyl Orange* dengan konsentrasi 6 mg/L, selanjutnya didegradasi secara fotokatalisis dengan beberapa variasi waktu dan massa katalis untuk mengetahui kondisi optimum dari degradasi *Methyl Orange*. Berdasarkan hasil penelitian diperoleh persentase degradasi *Methyl Orange* dengan perlakuan tanpa katalis, zeolit, dan ZnO secara berurutan adalah 5,83%, 32,51%, dan 60,09%, selanjutnya dengan menggunakan katalis ZnO/zeolit persentase degradasi *Methyl Orange* meningkat menjadi 93,27% (massa katalis 0,8 g dan waktu irradiasi 90 menit). Berdasarkan data tersebut dapat dikatakan bahwa katalis ZnO/zeolit berhasil meningkatkan persentase degradasi *Methyl Orange* dibandingkan menggunakan katalis ZnO saja dan zeolit saja. Selanjutnya hasil degradasi dan katalis ZnO/zeolit sebelum dan sesudah degradasi dianalisis dengan menggunakan FT-IR, dimana hasil polanya menunjukkan adanya pergeseran angka gelombang, hal tersebut menandakan terjadinya proses degradasi.

Kata kunci: ZnO/zeolit, *Methyl Orange*, fotolisis

1. Pendahuluan

Dalam beberapa dekade terakhir industri tekstil mengalami perkembangan yang cukup pesat. Menurut laporan Badan Pusat Statistika (BPS), pertumbuhan industri tekstil pada triwulan I 2019 mengalami peningkatan yang cukup signifikan yaitu mencapai angka 18,98%. Hal ini sesuai dengan fakta yang terlihat dimana semakin banyaknya muncul industri tekstil. Namun tidak semua industri tekstil menggunakan sistem pengelolaan limbah yang memadai, terutama industri tekstil skala kecil menengah dimana pengelolaan limbah masih dilakukan secara sederhana bahkan dengan membuang limbah secara langsung ke sungai, menyebabkan pencemaran lingkungan, terutama pencemaran air.

Pencemaran air oleh limbah tekstil salah satunya disebabkan oleh zat warna sintetik. Pada proses pencelupan, zat warna sintetik tidak sepenuhnya terserap pada kain. Sekitar 10-15% zat warna tidak dapat terserap dan menjadi limbah yang dapat membahayakan. Limbah zat warna sintetik sulit terdegradasi secara alami di lingkungan sehingga dapat berdampak buruk terhadap organisme air karena menghalangi sinar

matahari, memperlambat aktivitas fotosintesis dan menciptakan kondisi anaerob yang membatasi pertumbuhan biota air. Selain itu zat warna sintetik juga berdampak buruk terhadap kesehatan manusia seperti alergi, iritasi kulit, disfungsi ginjal, hati, otak, reproduksi, dan sistem syaraf [1].

Zat warna sintetik yang banyak digunakan dalam industri tekstil diantaranya zat warna golongan azo (N=N), salah satu contoh zat warna azo adalah *methyl orange* ($C_{14}H_{14}N_3NaO_3S$, 327,34 g/mol), *Methyl Orange* dapat menyebabkan Hypersensitive dan alergi pada manusia, Kemudian strukturnya yang stabil menyebabkan *Methyl Orange* sulit terdegradasi sehingga dapat berdampak buruk untuk lingkungan dan kesehatan[2].

Menghilangkan zat warna sintetik dapat dilakukan dengan *Advanced oxidation processes* (AOPs). Adapun beberapa contoh metode AOPs diantaranya ozonasi, fotolisis, UV/H₂O₂, fotokatalisis, fenton, foto-fenton, dan elektrofenton. AOPs didasarkan pada produksi radikal hidroksi ($\bullet OH$), dimana zat warna sintetik akan berubah menjadi senyawa sederhana seperti CO₂ dan H₂O menggunakan oksidan kuat ini [3]. Pada penelitian

ini peneliti menggunakan proses fotokatalitik untuk mendegradasi zat warna sintetik. Proses ini dipilih karena efisiensinya yang tinggi, tidak beracun, biaya yang relatif murah, stabilitas bahan kimia, serta kemungkinan melakukan reaksi pada suhu kamar [4].

Katalis yang digunakan pada penelitian ini adalah ZnO. Beberapa penelitian sebelumnya telah menggunakan ZnO sebagai fotokatalis dalam mendegradasi berbagai polutan seperti zat warna sintetik, logam berat, senyawa fenol, dan lain-lain, namun penggunaan ZnO saja kurang efektif dalam mendegradasi polutan organik karena ZnO memiliki daya adsorpsi yang lemah, sementara proses fotokatalitik terjadi pada fase teradsorpsi, sehingga dibutuhkan penambahan adsorben sebagai *support* katalis untuk meningkatkan efisiensi degradasi [5,6].

Pada penelitian ini katalis ZnO disupport dengan zeolit alam *Clinoptilolite-Ca* untuk memperluas permukaan dan memperbanyak pori dari ZnO. Zeolit alam *Clinoptilolite-Ca* digunakan sebagai pendukung fotokatalis karena stabilitas kimianya yang tinggi, permukaan berpori, serta volume partikel yang besar. Kemudian keberadaannya di alam juga berlimpah salah satunya terdapat di daerah Lubuk Salasiah, Kecamatan Solok, Sumatera Barat [7].

Pada penelitian ini akan dipelajari kemampuan dari katalis ZnO/zeolit dalam mendegradasi zat warna *Methyl Orange*. Dengan beberapa faktor operasional diantaranya waktu iradiasi dan massa katalis untuk mengetahui kondisi optimum dari degradasi zat warna *Methyl Orange*.

2. Metodologi Penelitian

2.1. Bahan kimia, peralatan dan instrumentasi

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah zeolit *Clinoptilolite-Ca*, *Methyl Orange* (Merck), ZnO (Merck), air destilasi, HCl (Merck), NaCl (Merck), AgNO₃ (Merck).

Peralatan yang digunakan adalah ayakan mikro (450 mesh), Spektrofotometer *Ultraviolet-Visibel* (Thermo Scientific Evolution 201 *UV-Vis Spectrophotometer*), neraca analitik (AA-200, Denver Instrumen Company), Lampu (*Luster BLB 10 W-TB*) ($\lambda = 365 \text{ nm}$), *centrifuge* (NASCO dengan kecepatan 3000 rpm), FT-IR (*Fourier Transfor-Infrared Spectroscopy*) (Unican Mattson Mod 7000 FT-IR), pipet takar, pipet gondok, *Handmade Irradiation Box*, dan alat-alat gelas lainnya.

2.2. Aktivasi Zeolit *clipnotilolit-Ca*

Zeolit digerus sampai halus kemudian diayak menggunakan ayakan 450 mesh. Sebanyak 200 g zeolit 450 mesh dimasukkan kedalam gelas piala kemudian ditambahkan 100 mL HCl 0,2 M, lalu distirer selama 30 menit. Kemudian setelah 30 menit diukur pH kemudian dibilas dengan aquades hingga pH netral. Setelah pH netral zeolit disaring dan dioven selama 1 jam pada suhu 100 °C, selanjutnya diperoleh zeolit teraktivasi. Zeolit yang telah diaktivasi selanjutnya dijenuhkan dengan penambahan larutan NaCl 0,1 M lalu diaduk selama 1 jam. Kemudian filtratnya disaring, untuk selanjutnya diuji dengan AgNO₃. Apabila masih terbentuk endapan putih maka zeolit dicuci dengan air destilasi hingga tidak terbentuk lagi endapan putih.

2.3. Preparasi Katalis ZnO/Zeolit *clipnotilolit-Ca*

zeolit yang telah dijenuhkan ditimbang sebanyak 400 g, ditambahkan air destilasi dan diaduk selama 5 jam, kemudian ditambahkan 16 g ZnO dengan perbandingan (25:1) gram perlahan-lahan secara bertahap sambil diaduk. Campuran kemudian disaring dengan penyaringan vakum lalu dikeringkan dengan oven pada temperatur 100 °C, selanjutnya digerus sampai halus lalu diayak menggunakan pengayak 150 mesh. Hasil ayakan dikalsinasi pada temperatur 400 °C selama 10 jam.

2.4. Penentuan Serapan Maksimum Senyawa *Methyl Orange*

Larutan *Methyl Orange* 100 mg/L dibuat dari larutan induk 1000 mg/L. Kemudian dibuat beberapa variasi konsentrasi *Methyl Orange* 2, 4, 6, 8, dan 10 mg/L dengan pengenceran. Setelah itu diukur absorban *Methyl Orange* dengan menggunakan spektrofotometer UV-VIS dengan rentang panjang gelombang 300-800 nm.

2.5. Penentuan Pengaruh Waktu Degradasi *Methyl Orange* Tanpa Katalis

Larutan *Methyl Orange* 6 mg/L diambil 20 mL, lalu dimasukkan kedalam 6 petridis. Kemudian difotolisis dengan variasi waktu 30, 45, 60, 75, 90 dan 105 menit dibawah lampu UV($\lambda=365 \text{ nm}$). Diukur nilai absorban masing-masing dengan Spektrofotometer UV-VIS.

2.6. Penentuan Kondisi Optimum Degradasi

2.6.1. Penentuan Pengaruh Penambahan Jumlah Katalis ZnO/zeolit

Katalis ZnO/zeolit ditimbang sebanyak 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1,0 dan 1,2 g, kemudian dimasukkan ke dalam 6

petridis yang berisi 20 mL *Methyl Orange*, lalu masing-masing petridis difotolisis dibawah lampu UV ($\lambda=365$ nm) selama waktu optimum. Kemudian larutan disentrifus selama 15 menit. Setelah itu diukur nilai absorbannya dengan spektrofotometer UV-VIS.

2.6.2. Penentuan Pengaruh Waktu Setelah Penambahan Katalis ZnO/zeolit

Larutan *Methyl Orange* 6 mg/L diambil 20 mL, kemudian dimasukkan kedalam 6 petridis. Masing-masing petridis ditambahkan katalis ZnO/zeolit dengan massa optimum, lalu diirradiasi dengan variasi waktu 30, 45, 60, 75, 90 dan 105 menit dibawah lampu UV ($\lambda=365$ nm). Larutan disentrifus selama 15 menit dan diukur nilai absorbannya dengan spektrofotometer UV-VIS.

2.6.3. Penentuan Pengaruh Waktu Setelah Penambahan Katalis ZnO

Larutan *Methyl Orange* 6 mg/L diambil 20 mL, kemudian dimasukkan kedalam 6 petridis. Masing-masing petridis ditambahkan katalis ZnO dengan massa hasil perbandingan 25:1 dari massa optimum lalu difotolisis dengan dengan variasi waktu 30, 45, 60, 75, 90, dan 105 menit dibawah lampu UV ($\lambda=365$ nm). Kemudian larutan disentrifus selama 15 menit. Setelah itu lalu diukur nilai absorbannya dengan spektrofotometer UV-VIS.

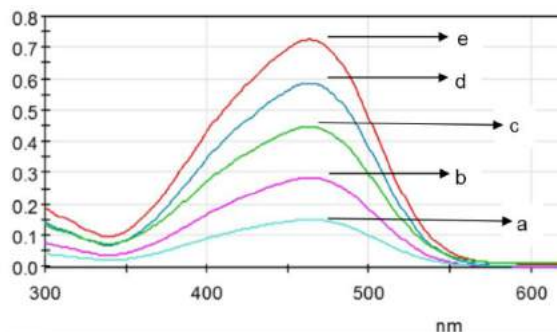
2.6.4. Penentuan Pengaruh Waktu Setelah Penambahan Katalis Zeolit

Larutan *Methyl Orange* 6 mg/L diambil 20 mL, kemudian dimasukkan kedalam 6 petridis. Masing-masing petridis ditambahkan Zeolit dengan massa hasil perbandingan 25:1 dari massa optimum lalu difotolisis dengan dengan variasi waktu 30, 45, 60, 75, 90, dan 105 menit dibawah lampu UV ($\lambda=365$ nm). Kemudian larutan disentrifus selama 15 menit. Setelah itu lalu diukur nilai absorbannya dengan spektrofotometer UV-VIS.

3. Hasil dan Pembahasan

3.1. Pengukuran Serapan Maksimum *Methyl Orange*

Panjang gelombang maksimum *Methyl Orange* dapat dilihat pada gambar 4.1.a. dimana puncak serapan maksimum dari *Methyl Orange* terdapat pada panjang gelombang 463 nm. Panjang gelombang ini selanjutnya digunakan untuk mengukur absorbansi dari masing-masing larutan sebelum dan sesudah degradasi.

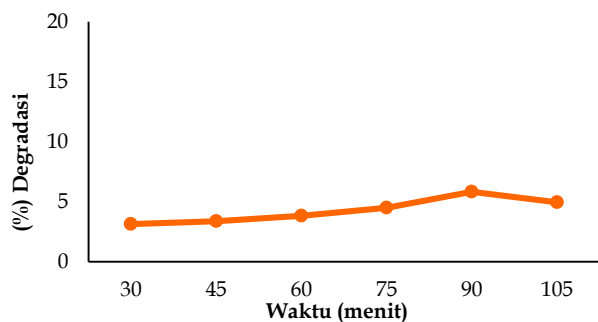


Gambar 1. Spektrum serapan *Methyl Orange* pada variasi konsentrasi (a) 2 mg/L, (b) 4 mg/L, (c) 6 mg/L, (d) 8 mg/L, (e) 10 mg/L

Berdasarkan Hukum *Lambert-Beer* nilai absorbansi yang baik berada pada rentang antara 0,2 sampai 0,8. Oleh karena itu untuk memperoleh rentang nilai absorbansi yang sesuai dengan Hukum *Lambert-Beer* digunakan variasi konsentrasi yang berbeda untuk *Methyl Orange* (2, 4, 6, 8, 10, dan 12 mg/L). Berdasarkan kelinearan kurva kalibrasi diperoleh persamaan regresi dari *Methyl Orange*, $y = 0,0719x + 0,0113$ dengan $R^2 = 0,9988$. Penelitian selanjutnya dilakukan degradasi *Methyl Orange* pada konsentrasi 6 mg/L secara fotolisis dengan menggunakan sinar UV A ($\lambda = 365$ nm).

3.2. Penentuan Pengaruh Waktu terhadap Persentase Degradasi *Methyl Orange* tanpa katalis

Pada Gambar 4.2 menunjukkan pengaruh waktu penyinaran terhadap persentase degradasi *Methyl Orange* pada proses fotolisis tanpa penambahan katalis ZnO/zeolit. Dari kurva tersebut dapat kita lihat bahwa semakin lama waktu penyinaran mengakibatkan persentase degradasi yang semakin meningkat. Hal ini disebabkan karena semakin lama waktu penyinaran menyebabkan semakin banyak sinar UV yang diserap oleh *Methyl Orange* menghasilkan radikal hidroksil ($\bullet\text{OH}$) yang semakin banyak juga [8]. Radikal hidroksil memiliki peran penting dalam mendegradasi molekul organik dari zat warna *Methyl Orange* dan karena merupakan oksidator kuat ($E_0 = 2,28$ eV) [9]. Pada penelitian ini waktu optimum didapatkan untuk *Methyl Orange* adalah 90 menit.

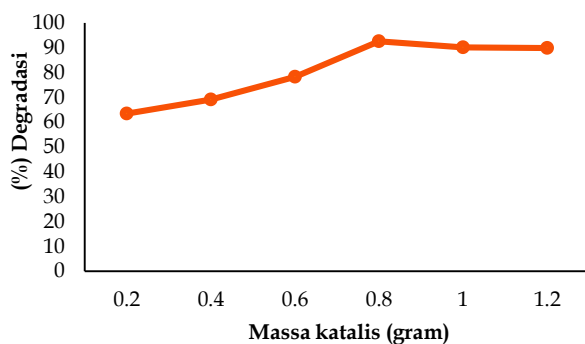


Gambar 4.2 Kurva pengaruh waktu penyinaran 20 mL larutan *Methyl Orange* 6 mg/L terhadap persentase degradasi.

3.3. Penentuan Pengaruh Jumlah Katalis ZnO/zeolit terhadap Persentase Degradasi *Methyl Orange*

Pada Gambar 4.3 menunjukkan hubungan antara massa katalis dengan persentase degradasi, dimana semakin banyak massa katalis ZnO/zeolit yang ditambahkan maka persentase degradasi semakin meningkat. Hal ini disebabkan karena radikal hidroksil yang dihasilkan akan semakin banyak dengan bertambahnya massa katalis ZnO/zeolit [9]. Sehingga molekul organik dari zat warna *Methyl Orange* semakin banyak terdegradasi.

Pada penelitian ini massa optimum katalis ZnO/zeolit untuk degradasi *Methyl Orange* adalah 0,8 g. Selanjutnya penambahan katalis dengan massa yang lebih besar dari massa optimum tidak mengalami perubahan persen degradasi yang signifikan, ini dikarenakan telah terjadi kejenuhan larutan akibat penambahan jumlah katalis yang lebih banyak yang menyebabkan nilai absorban menjadi naik atau cenderung stabil [7].

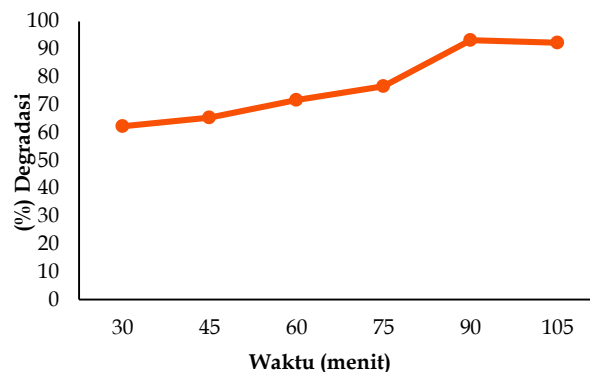


Gambar 4.3 Kurva pengaruh massa ZnO/zeolit terhadap persentase degradasi 20 mL larutan *Methyl Orange* 6 mg/L (waktu iradiasi 90 menit)

3.4. Penentuan Pengaruh Waktu Setelah Penambahan Katalis ZnO/zeolit terhadap Persentase Degradasi *Methyl Orange*

Pada Gambar 4.4 menunjukkan terjadinya peningkatan persentase degradasi *Methyl Orange* dengan bertambahnya waktu iradiasi, dimana

waktu iradiasi optimum untuk *Methyl Orange* adalah 90 menit dengan persentase degradasi 93,27%. Persentase degradasi yang besar terjadi karena adanya interaksi antara ZnO dan zeolit, dimana saat ZnO terkena cahaya UV terjadi proses transformasi kimia dengan pembentukan radikal hidroksi ($\bullet\text{OH}$), seiring dengan lama waktu penyinaran mengakibatkan produksi radikal hidroksi ($\bullet\text{OH}$) yang semakin banyak, kemudian dengan adanya zeolit sebagai support katalis membantu memperluas permukaan dari ZnO tersebut sehingga daya adsorbsinya semakin bagus⁸, hal inilah yang menyebabkan *Methyl Orange* terdegradasi secara optimal.

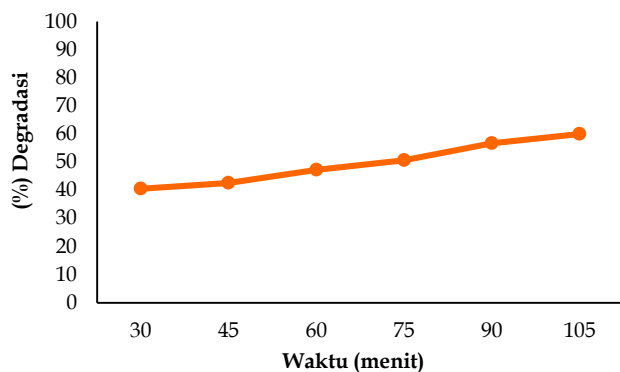


Gambar 4.4 Kurva pengaruh waktu iradiasi setelah penambahan ZnO/zeolit terhadap degradasi 20 mL larutan *Methyl Orange* 6 mg/L (massa ZnO/zeolit 0,8 g)

3.5. Penentuan Pengaruh Waktu Setelah Penambahan Katalis ZnO terhadap Persentase Degradasi *Methyl Orange*

Gambar 4.5 menunjukkan bahwa semakin lama waktu penyinaran persentase degradasi yang dihasilkan semakin meningkat. Pada penelitian ini waktu optimum yang diperoleh untuk degradasi *Methyl Orange* dengan penambahan katalis 0,031 g ZnO adalah 105 menit dengan persentase degradasi 60,09%. Berdasarkan nilai persentase degradasi tersebut dapat dikatakan bahwa pada waktu 105 menit merupakan waktu kontak efektif ZnO terhadap degradasi *Methyl Orange*.

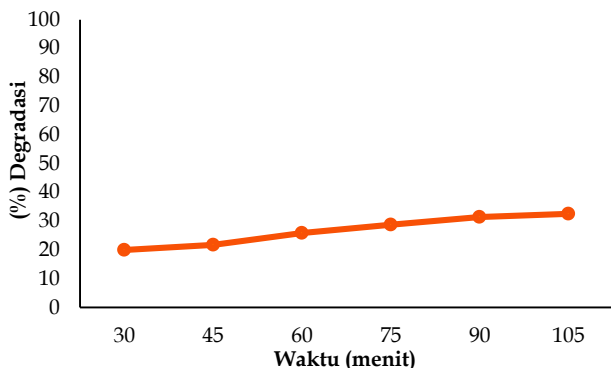
Pada masing-masing waktu optimum tersebut terjadi penyerapan energi foton ($h\nu$) yang paling optimal, sehingga terjadinya proses eksitasi elektron dari pita valensi ke pita konduksi, menyebabkan terbentuknya pasangan Elektron(-) hole(+). Hole(+) inilah yang akan bereaksi dengan H_2O atau OH^- yang terserap dari larutan sampel yang kemudian menghasilkan radikal hidroksil ($\bullet\text{OH}$) yang akan bereaksi dengan molekul organik dari zat warna *Methyl Orange* menghasilkan senyawa yang lebih sederhana (CO_2 dan H_2O) [10].



Gambar 4.5 Kurva pengaruh waktu irradiasi setelah penambahan ZnO terhadap degradasi 20 mL larutan *Methyl Orange* 6 mg/L (massa ZnO 0,031 g).

3.6. Penentuan Pengaruh Waktu Setelah Penambahan Zeolit terhadap Persentase Degradasi *Methyl Orange*

Gambar 4.6 menunjukkan bahwa semakin lama waktu penyinaran persentase degradasi yang dihasilkan semakin besar. Waktu optimum yang peroleh untuk *Methyl Orange* adalah 105 menit dengan persentase degradasi 32,51%. Pada proses fotolisis dengan penambahan katalis zeolit iraradiasi dengan UV tidak mempengaruhi persentase degradasi, karna proses yang terjadi adalah proses absorpsi oleh zeolit terhadap masing-masing zat warna.

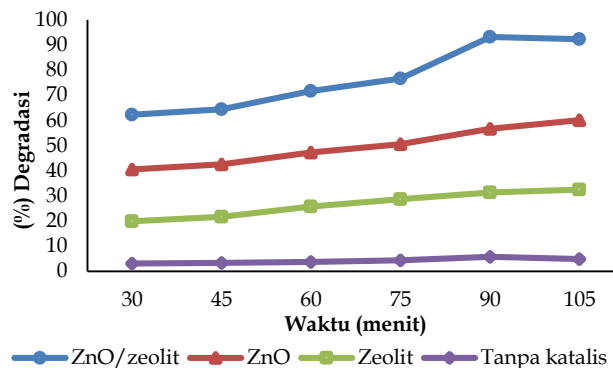


Gambar 4.6 Kurva pengaruh waktu irradiasi setelah penambahan zeolit terhadap degradasi 20 mL larutan *Methyl Orange* 6 mg/L (massa zeolit 0,769 g)

3.7. Perbandingan Persentase Degradasi *Methyl Orange* tanpa Katalis, Penambahan Katalis ZnO, Zeolit, ZnO/zeolit

Gambar 4.7 menunjukkan bahwa persentase degradasi semakin meningkat dan waktu irradiasi yang dibutuhkan semakin cepat dengan adanya penambahan katalis. Hasil degradasi terjadi secara optimal dengan penambahan katalis ZnO/zeolit, hal ini membuktikan bahwa penambahan zeolit

sebagai *support* katalis mampu meningkatkan efisiensi dari proses degradasi.



Gambar 4.7 Perbandingan persentase degradasi 20 mL larutan *Methyl Orange* 6 mg/L (a) tanpa katalis, (b) zeolit, (c) ZnO, dan (d) ZnO/zeolit.

4. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa katalis ZnO/zeolit efektif dalam mendegradasi zat warna *Methyl Orange* dibandingkan hanya menggunakan katalis ZnO dan zeolit saja. Hasil persentase degradasi *Methyl Orange* 6 mg/L dengan perlakuan tanpa katalis, zeolit, dan ZnO secara berurutan adalah 5,83%, 32,51%, dan 60,09%, selanjutnya dengan menggunakan ZnO/zeolit persentase degradasi *Methyl Orange* meningkat menjadi 93,27% (massa katalis 0,8 g dan waktu irradiasi 90 menit). Berdasarkan data tersebut dapat dikatakan bahwa ZnO/zeolit mampu meningkatkan efisiensi degradasi dari *Methyl Orange*.

Referensi

1. Zein, R., Ramadhani, P., Aziz, H., & Suhaili, R. 2019. Biosorben Cangkang Pensi (*Corbicula Moltkiana*) sebagai Penyerap Zat Warna Metanil Yellow Ditinjau dari pH dan Model Kesetimbangan Adsorpsi. *Jurnal Litbang Industri*. Vol. 9(1):15-22.
2. Ariguna, I. W. S. P., Wiratini, N. M., & Sastrawidana, I. D. K. 2017. Degradasi Zat Warna Remazol Yellow FG dan Limbah Tekstil Buatan dengan Teknik Elektrokodsidi. *Jurnal Pendidikan Kimia Undiksha*. Vol. 1(1).
3. Yatmaz, H. C., Dizge, N., & Kurt, M. S. 2017. Combination of photocatalytic and membrane distillation hybrid processes for reactive dyes treatment. *Environmental technology*. Vol. 38(21): 2743-2751.
4. Davari, N., Farhadian, M., & Solaimany Nazar, A. R. 2019. Synthesis and characterization of Fe₂O₃ doped ZnO supported on clinoptilolite

- for photocatalytic degradation of metronidazole. *Environmental technology*. 1-13.
- Amornpitoksuk, P., Suwanboon, S., & Randorn, C. 2018. Photocatalytic activities of silver compound modified activated carbon@ ZnO: Novel ternary composite visible light-driven photocatalysts. *Materials Science in Semiconductor Processing*. Vol. 84: 50-57.
 - Naimah, S., Jati, B. N., Aidha, N. N., & Cahyaningtyas, A. A. 2014. Degradasi Zat Warna Pada Limbah Cair Industri Tekstil Dengan Metode Fotokatalitik Menggunakan Nanokomposit Tio₂-Zeolit. *Jurnal Kimia dan Kemasan*. Vol. 36(2): 225-236.
 - Zilfa, Rahmayeni, Stiadi, Y. 2018. Utilization of Natural Zeolit *Clipnotilolite-Ca* as a Support of ZnO Catalyst for Congo-Red Degradation and Congo-Red Waste Applications with Photolysis. *Oriental Journal of Chemistry*. Vol. 34(2): 887-893.
 - Bhernama, B. G., Safni, S., & Syukri, S. 2015. Degradasi Zat Warna Metanil Yellow Secara Fotolisis Dan Penyinaran Matahari Dengan Penambahan Katalis TiO₂-anatase dan SnO₂. *Elkawanie*. Vol. 1(1): 49-62.
 - Fitriyani, Y. O., Septiani, U., Wellia, D. V., Putri, R. A., & Safni, S. 2017. Degradasi Zat Warna Direct Red-23 Secara Fotolisis dengan Katalis CN-codoped TiO₂. *Jurnal Kimia Valensi*.
 - Klamerth, N., Malato, S., Maldonado, M. I., Agüera, A., & Fernández-Alba, A. 2011. Modified photo-Fenton for degradation of emerging contaminants in municipal wastewater effluents. *Catalysis Today*. Vol. 161(1): 241-246.

UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN ANTIBAKTERI SERTA KANDUNGAN FENOLIK TOTAL DARI EKSTRAK DAUN PACING (*Cheilostus speciosus* (J. Koenig) C.D Specht)

Adlis Santoni, Mai Efdi, Lucia Aliffia*

Laboratorium Kimia Organik Bahan Alam, Jurusan Kimia, Universitas Andalas
Jurusan Kimia FMIPA UNAND, Kampus Limau Manis, 25163

*E-mail: luciaaliffia@gmail.com

Abstract: Pacing (*Cheilocostus speciosus*) adalah tanaman obat yang secara tradisional digunakan sebagai obat penyakit kulit, rematik, kusta, asma, radang, batuk, demam, penyakit jantung, diabetes dan anemia. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui kandungan fenolik total, aktivitas antioksidan dan antibakteri dari ekstrak daun pacing. Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi bertingkat menggunakan pelarut heksana, etil asetat dan metanol. Penentuan kandungan fenolik total dilakukan dengan metode Follin-Ciocalteu, aktivitas antioksidan dengan metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) dan aktivitas antibakteri dengan metode difusi cakram. Hasil penelitian menunjukkan bahwa daun pacing mengandung senyawa flavonoid, fenolik, steroid dan alkaloid. Kandungan fenolik total pada ekstrak metanol, etil asetat dan heksana secara berturut-turut adalah 3,9306; 1,4626; 0,8647 mg GAE/g. Ekstrak metanol bersifat antioksidan sangat kuat (45,0505 mg/L), ekstrak etil asetat bersifat antioksidan kuat (95,3754 mg/L) dan ekstrak heksana bersifat antioksidan lemah (160,0546 mg/L). Hasil uji aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat bersifat sedang dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 35% dengan diameter zona hambat 5,190 mm tetapi bersifat lemah pada ekstrak heksana dan metanol, sedangkan pada bakteri *Escherichia coli* semua ekstrak bersifat lemah dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Dari hasil penelitian dapat diketahui bahwa ekstrak metanol memiliki aktivitas antioksidan tertinggi dan ekstrak etil asetat memiliki aktivitas antibakteri tertinggi.

Keywords : *Cheilocostus speciosus*, Total Fenolik, Antioksidan, Antibakteri

1. Pendahuluan

Indonesia merupakan negara yang kaya dengan keanekaragaman hayati berbagai jenis tanaman yang dapat tumbuh subur dikarenakan keadaan Indonesia yang beriklim tropis[1]. Secara turun-temurun masyarakat telah memanfaatkan tanaman untuk memenuhi kebutuhan hidup, termasuk pemanfaatan tanaman sebagai obat-obatan[2]. Tumbuhan obat didefinisikan sebagai jenis tumbuhan yang sebagian atau seluruh tumbuhan yang digunakan sebagai obat, bahan atau ramuan obat[3].

Tumbuhan dapat menghasilkan senyawa metabolit yaitu senyawa metabolit primer dan metabolit sekunder. Senyawa metabolit primer seperti karbohidrat, protein, lemak dan asam nukleat sedangkan senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, steroid, terpenoid, fenolik, saponin, flavonoid dan saponin[4]. Metabolit sekunder merupakan biomolekul yang dapat digunakan sebagai *lead compound* dalam penemuan dan pengembangan obat-obat baru seperti antioksidan, antibakteri, antiinflamasi,

antikanker, menghambat efek karsinogenik, antivirus serta dimanfaatkan sebagai antigen dalam pengendali hama yang ramah lingkungan[5-6].

Salah satu tumbuhan yang digunakan oleh masyarakat adalah tumbuhan pacing. Pacing disebut juga dengan *Cheilocostus speciosus* (J. Koenig) C.D Specht merupakan tanaman obat-obatan yang tergolong dalam temu-temuan (*Zingiberaceae*). Tanaman pacing digunakan oleh masyarakat sebagai pengobatan tradisional yang berkhasiat sebagai obat gatal-gatal, obat luka akibat gigitan serangga, demam, kusta, cacingan, asma, lepra, radang, diare, bronkitis dan rematik[7]. Pacing telah dilaporkan memiliki aktivitas sebagai antifungi, antibakteri, sitotoksik, antioksidan, antikanker, antidiabetes, dan antiinflamasi[8].

Berdasarkan studi pustaka yang telah dilakukan, maka pada penelitian ini dilakukan ekstraksi dengan metode bertingkat menggunakan tiga pelarut yang berbeda tingkat kepolarnya, dilakukan penentuan kandungan

fenolik total dengan metode Folin-Ciocalteu, pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH (1.1-difenil-2-pikrilhidrazil) serta pengujian aktivitas antibakteri dengan menggunakan metode difusi cakram terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichial coli*. Sehingga diharapkan dapat diketahui bagaimana potensi daun pacing sebagai tanaman obat.

2. Metodologi Penelitian

2.1. Alat

Alat yang digunakan adalah botol berwarna gelap, grinder, rotary evaporator (Heidolp WB 2000), neraca analitik, oven, lampu UV, alat destilasi, spektrofotometer UV-Vis (Genesys-20), micropipet, cawan petridisk, autoclave (GEA YX-18LDJ), laminar air flow (type:HS 0759), inkubator, spiritus, cotton bud, jarum ose, neraca analitik (KERN ABJ 220-4NM), vortex mixer, jangka sorong, bunsen, kertas cakram, magnetic stirrer, tabung reaksi, pemanas, kaca arloji, plat KLT, kapas, kertas saring, tisu dan beberapa gelas kimia.

2.2. Bahan

Bahan yang digunakan untuk ekstraksi adalah pelarut (heksana, etil asetat, dan metanol) yang telah didistilasi terlebih dahulu. Bahan yang digunakan untuk uji fitokimia adalah asam sulfat 2N, asam klorida, kloroform, pereaksi Liebermann Burchard yaitu anhidrida asetat p.a. dan asam sulfat p.a., FeCl_3 10%, NaOH, bubuk Mg. Bahan yang digunakan untuk uji aktivitas antioksidan dan penentuan total fenolik adalah DPPH, Na_2CO_3 20%, akuades, asam galat, asam askorbat, reagen Follin-Ciocalteu. Bahan yang digunakan untuk uji aktivitas antibakteri adalah media Muller-Hinton Agar (MHA), media Nutrient Agar (NA), NaCl fisiologis, alkohol 70% dan kloramfenikol.

2.3. Prosedur Penelitian

2.3.1. Persiapan Sampel dan Identifikasi Tumbuhan Pacing

Daun pacing diambil di Kota Padang, Sumatera Barat. Sampel segar daun pacing sebanyak 5 Kg dirajang halus dan dikering anginkan selama beberapa minggu pada udara terbuka yang tidak terkena cahaya matahari secara langsung. Selanjutnya sampel dijadikan bubuk.

Identifikasi sampel tumbuhan pacing dilakukan di Laboratorium Herbarium Universitas Andalas (UNAND) untuk

memperoleh informasi famili dan spesies dari sampel yang digunakan pada penelitian.

2.3.2 Ekstraksi Sampel

Sampel bubuk daun pacing sebanyak 1500 gram diekstrak dengan cara maserasi (perendaman) secara bertingkat menggunakan pelarut heksana, etil asetat dan metanol. Sampel dimasukkan ke dalam botol gelap dan direndam menggunakan pelarut heksana dengan lama satu kali perendaman selama 3-4 hari. Maserasi dilakukan secara berulang hingga ekstrak (filtrat) menjadi bening kemudian disaring menggunakan kertas saring dan ekstrak yang diperoleh diuapkan pelarutnya dengan rotary evaporator, didapatkan ekstrak pekat heksana kemudian dikumpulkan dan ditimbang, ampas dari maserasi menggunakan pelarut heksana dikeringkan beberapa hari, dilakukan maserasi kembali dengan cara yang sama menggunakan pelarut etil asetat hingga didapatkan ekstrak pekat etil asetat. Cara ekstraksi yang sama juga dilakukan pada pelarut metanol hingga didapatkan ekstrak pekat metanol. Ketiga ekstrak yang diperoleh maka dilakukan uji fitokimia, penentuan kandungan total fenolik uji aktivitas antioksidan, dan antibakteri.

2.3.3 Uji Kandungan Metabolit Sekunder

Daun pacing dipotong halus, dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan dilarutkan dengan metanol sebanyak 5 mL. Setelah itu ditambahkan kloroform : akuades (1:1) masing-masing sebanyak 3 mL. Setelah itu dikocok dan dibiarkan sampai terbentuk 2 lapisan. Lapisan air berada pada bagian atas larutan digunakan untuk pemeriksaan senyawa flavonoid, fenolik dan saponin sedangkan lapisan kloroform berada pada bagian bawah larutan digunakan untuk pemeriksaan triterpenoid dan steroid.

a. Pemeriksaan Flavonoid

Dimasukkan 5 tetes ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan asam klorida pekat dan sedikit bubuk magnesium. Terbentuknya warna jingga sampai merah yang menandakan adanya senyawa flavonoid.

b. Pemeriksaan Fenolik

Dimasukkan 5 tetes ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan larutan besi(III) klorida. Terbentuknya warna biru hingga hijau pekat menandakan adanya senyawa fenolik.

c. *Pemeriksaan Saponin*

Dimasukkan 5 tetes ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan beberapa tetes asam klorida pekat. Terbentuknya busa yang tidak hilang menandakan adanya senyawa saponin.

d. *Pemeriksaan Triterpenoid dan Steroid*

Diteteskan pada lubang plat tetes, kemudian ditambahkan pereaksi *Liebermann-Burchard*. Apabila terdapat cincin merah atau ungu pada larutan menandakan adanya senyawa triterpenoid dan apabila terdapat cincin hijau atau hijau biru menandakan adanya senyawa steroid.

e. *Pemeriksaan Alkaloid*

Daun pacing dipotong kecil dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Ditambahkan 5 mL kloroform-ammonia 0,05 M lalu diambil filtratnya. Kemudian ditambahkan asam sulfat 2N dikocok dan dibiarkan hingga terbentuk dua lapisan (asam sulfat dan kloroform). Diambil lapisan atas (asam sulfat) ditambahkan pereaksi Meyer. Terbentuknya endapan atau kabut putih menandakan adanya senyawa alkaloid.

f. *Pemeriksaan Kumarin*

Daun pacing digerus dan diekstrak dengan metanol kemudian disaring. Kemudian filtratnya ditotolkan pada plat KLT menggunakan pipa kapiler dan dielusi dengan eluen di dalam *chamber*. Setelah plat KLT dielusi diamati dibawah sinar UV 254 nm dan 365 nm terlihat adanya warna biru berfluorisensi, warna biru tersebut semakin terang setelah disemprotkan NaOH 1% maka menandakan adanya senyawa kumarin.

2.3.4. *Penentuan Kandungan Fenolik Total*

Penentuan kandungan fenolik total dilakukan dengan metode Follin-Ciocalteu.

a. *Penentuan Kandungan Fenolik Total Larutan Standar Asam Galat*

Larutan standar dibuat dengan melarutkan 10 mg asam galat ke dalam labu 10 mL menggunakan metanol dan didapatkan konsentrasi 1000 mg/L. Kemudian diambil 2,5 mL dan diencerkan ke dalam labu 10 mL, dibuat variasi konsentrasi larutan standar yaitu pada konsentrasi 10;20;40;60;80 mg/L. Setelah itu sampel diambil 0,5 mL dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL. Ditambahkan 0,5 mL

reagen Follin-Ciocalteu didiamkan selama 5 menit. Kemudian ditambahkan 1 mL NaCO₃ 20% dan diencerkan ke dalam labu ukur 10 mL menggunakan akuades sampai tanda batas. Didiamkan selama 2 jam dan diukur absorban dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 765 nm. Berdasarkan nilai absorban didapatkan kurva dan persamaan regresi dari larutan standar asam galat.

b. *Pembuatan Larutan Uji*

Ditimbang sebanyak 10 mg masing-masing ekstrak diencerkan ke dalam labu ukur 10 mL menggunakan akuades sehingga didapatkan konsentrasi 1000 mg/L. Dipipet 0,5 mL dan dimasukkan ke dalam labu 10 mL. Ditambahkan 0,5 mL reagen Follin-Ciocalteu didiamkan selama 5 menit. Kemudian ditambahkan 1 mL Na₂CO₃ 20% dan diencerkan ke dalam labu ukur 10 mL menggunakan akuades sampai tanda batas. Didiamkan 2 jam dan diukur absorban dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 765 nm. Kadar fenolik yang didapatkan dinyatakan dalam *Galic Acid Equivalent* (GAE).

2.3.5. *Pengujian Aktivitas Antioksidan*

Pengujian Aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH (1,1-difenil-pikrihidrazil).

a. *Pembuatan Larutan DPPH*

DPPH ditimbang sebanyak 4 mg dan diencerkan ke dalam labu 100 mL menggunakan metanol sampai tanda batas sehingga didapatkan larutan DPPH 0,1 mM.

b. *Pembuatan Larutan Sampel*

Sebanyak 10 mg masing-masing ekstrak dilarutkan dengan pelarut metanol ke dalam labu ukur 10 mL dan didapatkan konsentrasi larutan sebesar 1000 mg/L. Larutan uji dibuat dengan variasi konsentrasi 50;25;12,5;6,25;3,125 mg/L untuk ekstrak metanol, 100;50;25;12,5;6,25 mg/L untuk ekstrak etil asetat, 100;80;60;40;20 untuk ekstrak heksana. Sebagai kontrol positif digunakan asam askorbat dengan konsentrasi 3,125;6,25;12,5;25;50 mg/L.

c. *Penentuan Aktivitas Antioksidan*

Masing-masing larutan uji diambil 2 mL dan ditambahkan DPPH 3 mL, didiamkan selama 30 menit serta campuran dihindari dari cahaya. Untuk kontrol negatif ditambahkan 2 mL metanol dan 3 mL dipipet 3 mL DPPH. Selanjutnya diukur absorban dari masing-

masing konsentrasi larutan uji, kontrol positif, kontrol negatif pada panjang gelombang 517 nm. Adsorban yang didapatkan dihitung % inhibisi, setelah didapatkan % inhibisi dapat ditentukan nilai IC_{50} dari variasi konsentrasi larutan uji dengan menggunakan persamaan regresi.

2.3.6. Pengujian Aktivitas Antibakteri

Pengujian antibakteri dengan metode difusi cakram.

a. Persiapan dan Sterilisasi Alat

Peralatan yang digunakan disterilisasi terlebih dahulu menggunakan *autoclave* pada suhu $121^{\circ}C$ selama 15 menit.

b. Persiapan Larutan Uji, Kontrol Positif dan Kontrol Negatif

Sebanyak 3,5 gram masing-masing ekstrak heksana, etil asetat, dan metanol dilarutkan dalam labu 10 mL menggunakan masing-masing pelarutnya dan diperoleh larutan induk 35%. Kemudian dibuat variasi konsentrasi 30;25;20%. Untuk kontrol positif digunakan kloramfenikol 0,25% dibuat dengan melarutkan 250 mg kloramfenikol dalam labu 100 mL. Sedangkan kontrol negatif menggunakan pelarut heksana, etil asetat dan metanol.

c. Pembuatan Medium Nutrien Agar (NA) Miring

Bubuk NA ditimbang sebanyak 2 gram dilarutkan ke dalam erlemeyer sebanyak 80 mL akuades. Dipanaskan pada suhu $210^{\circ}C$ dan diaduk sampai larut sempurna. Kemudian disterilkan dan dimasukkan medium NA ke dalam tabung reaksi sebanyak 10 mL dimiringkan dan dibiarkan memadat.

d. Peremajaan Bakteri

Diambil bakteri uji dari stok bakteri menggunakan jarum ose dan ditempatkan pada media miring yang telah memadat. Kemudian diinkubasi bakteri selama 24 jam pada suhu $37^{\circ}C$ didalam inkubator.

e. Pembuatan suspensi Bakteri Uji

Suspensi bakteri dibuat dari larutan NaCl fisiologi 0,9% dengan melarutkan 225 mg NaCl ke dalam labu 25 mL menggunakan akuades. Larutan NaCl disterilkan terlebih dahulu. Kemudian diambil 5 mL larutan NaCl dan diambil beberapa ose bakteri, diaduk sampai homogen.

f. Pembuatan Media Mueller-Hinton Agar

Mueller-Hinton Agar ditimbang sebanyak 7,6 gram dilarutkan ke dalam erlemeyer sebanyak 200 mL akuades. Dipanaskan dan diaduk dengan *magnetic stirrer* sampai larut sempurna pada suhu $210^{\circ}C$. Setelah larut sempurna di sterilkan dengan *autoclave* suhu $121^{\circ}C$ selama 15 menit. Setelah steril tuangkan media ke dalam *petridish* didalam *laminar air flow* dan biarkan media memadat.

g. Pengujian Antibakteri

Suspensi bakteri dipipet sebanyak 500 μ L ke dalam cawan petri berisi media MHA yang telah dipadatkan. Media di *swab* dengan kapas sampai suspensi bakteri menyebar rata pada permukaan media MHA. Kertas cakram berukuran 5 mm ditetesi dengan 10 μ L larutan uji menggunakan mikropipet. Diinkubasi selama 24 jam pada suhu $37^{\circ}C$, zona bening yang terbentuk diukur dengan menggunakan jangka sorong.

3. Hasil dan Pembahasan

3.1. Persiapan Sampel dan Identifikasi Tumbuhan

Berdasarkan hasil identifikasi tumbuhan sampel di herbarium Universitas Andalas (ANDA) Jurusan Biologi FMIPA Universitas Andalas, dalam surat nomor 351/K-ID/ANDA/XII/2020, sampel tumbuhan termasuk dalam famili Costaceae, spesies *Cheilocostus speciosus* (J.Koening) C.D Spech.

3.2. Ekstraksi Sampel

Tabel 1. Hasil ekstraksi daun pancing

Jenis pelarut	Jumlah ekstrak (gram)	Kadar ekstrak (%)
Heksana	29,5286	1,9686%
Etil asetat	25,8648	1,7243%
Metanol	40,7788	2,7185%

Berdasarkan Tabel 1. diketahui bahwa proses ekstraksi dengan menggunakan tiga pelarut memberikan rendemen yang bervariasi, hal ini terjadi karena pelarut yang digunakan memiliki kepolaran yang berbeda. Penempatan urutan pelarut bertujuan agar senyawa yang terkandung didalam sampel dapat terekstrak sesuai dengan tingkat kepolarannya. Dimana dari ketiga pelarut didapatkan bahwa ekstrak metanol merupakan ekstrak yang paling banyak jumlahnya. Hal ini menunjukkan bahwa kandungan senyawa organik polarnya relatif lebih besar, diikuti berturut-turut oleh ekstrak

heksana (non polar) dan etil asetat (semi polar)[9].

3.3. Pengujian Fitokimia

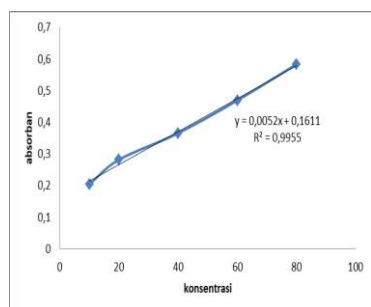
Tabel 2. Uji fitokimia simplisia dan ekstrak

Senyawa	Hasil			
	simplisia	Ekstrak Heksan	Ekstrak EtAc	Ekstrak MeOH
Flavonoid	+	-	-	+
Fenolik	+	-	+	+
Saponin	-	-	-	-
Triterpenoid	-	-	-	-
Steroid	+	-	+	+
Alkaloid	+	+	+	+
Kumarin	-	-	-	-

Sampel daun pancing mengandung beberapa senyawa metabolit sekunder yaitu flavonoid, fenolik, steroid dan alkaloid. Senyawa flavonoid, fenolik, alkaloid dan steroid merupakan senyawa yang aktif sebagai antioksidan dan antibakteri[10]. Senyawa-senyawa ini terkandung didalam ekstrak daun pancing sehingga menyebabkan daun pancing aktif sebagai antibakteri dan antioksidan.

3.4. Penentuan kandungan fenolik total

Kandungan fenolik total ditentukan dengan metode Follin-Ciocalteu. Asam galat sebagai larutan standar karena asam galat merupakan fenolik alami turunan asam hidroksi benzoat[11]. Kurva standar asam galat dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Kurva asam galat

Berdasarkan gambar 1 diketahui bahwa semakin tinggi konsentrasi maka semakin besar nilai absorbansi yang didapatkan. Dari kurva tersebut didapatkan nilai regresi asam galat $Y = 0,0052x + 0,1611$ dengan $R^2 = 0,9955$, persamaan regresi tersebut digunakan untuk menentukan kandungan fenolik total yang dihitung sebagai *Galic Acid Equivalent* (GAE).

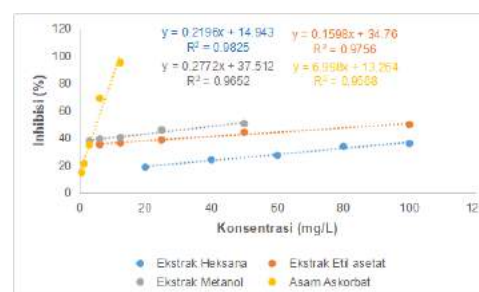
Tabel 3. Data kandungan fenolik total daun pancing

Ekstrak	Kandungan fenolik total (mg GAE/g sampel)
Heksana	0,8647
Etil Asetat	1,4626
Metanol	3,9306

Berdasarkan Tabel 4.3 didapatkan data bahwa kandungan fenolik yang paling tinggi terdapat pada ekstrak metanol, hal ini karena metanol bersifat polar sehingga mampu malarutkan lebih baik dibandingkan dengan pelarut etil asetat yang bersifat semi polar dan heksana bersifat non polar. Senyawa fenolik cenderung larut dalam pelarut polar[11]. Banyaknya senyawa fenolik yang terdapat pada ekstrak daun pancing memiliki pengaruh terhadap aktivitas antioksidan

3.5. Aktivitas Antioksidan

Masing-masing ekstrak daun pancing dilakukan pengujian aktivitas antioksidan untuk melihat kemampuan ekstrak dalam menangkal radikal bebas. Pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). Kurva aktivitas antioksidan ekstrak daun pancing dan asam askorbat dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Kurva masing-masing ekstrak daun pancing dan asam askorbat

Berdasarkan pada Gambar 2. kurva yang didapatkan memperlihatkan bahwa semakin tinggi konsentrasi sampel maka semakin tinggi % inhibisi yang didapatkan sehingga kemampuan dalam menghambat radikal bebas (DPPH) semakin kuat. Aktivitas antioksidan dinyatakan dengan nilai IC_{50} (*inhibition concentration*), yaitu konsentrasi sampel yang dapat merendam radikal bebas yang mampu menghambat 50% radikal bebas[12]. Nilai IC_{50} dapat dihitung dari persamaan garis regresi, dimana mensubstitusikan nilai 50 pada sumbu y

dan didatkan nilai x sebagai nilai IC₅₀. Nilai IC₅₀ dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Nilai IC₅₀ ekstrak daun pacing dan asam askorbat

Ekstrak	IC ₅₀ (mg/L)
Heksana	160,0456
Etil asetat	95,3754
Metanol	45,0505
Asam askorbat	5,250

Berdasarkan pada Tabel 4 dapat dilihat bahwa nilai IC₅₀ pada ekstrak heksana, ekstrak etil asetat dan ekstrak metanol lebih besar dibandingkan dengan asam askorbat. Asam askorbat (kontrol positif) digunakan karena kemampuannya menangkal radikal bebas sangat baik dilihat pada nilai IC₅₀ yang didapatkan. Semakin kecil nilai IC₅₀ maka semakin besar aktivitas antioksidannya. Kategori Aktivitas antioksidan pada suatu senyawa dapat digolongkan berdasarkan pada Tabel 5.

Tabel 4.5 Penggolongan aktivitas antioksidan

IC ₅₀ (mg/L)	Kategori
>50	Sangat kuat
50<IC ₅₀ >100	Kuat
100<IC ₅₀ >150	Sedang
150<IC ₅₀ >200	Lemah
<200	Sangat lemah

Pengujian antioksidan pada ekstrak daun pacing didapatkan bahwa ekstrak metanol tergolong antioksidan sangat kuat, ekstrak etil asetat tergolong antioksidan kuat dan ekstrak heksana tergolong antioksidan lemah. Tingginya aktivitas antioksidan pada ekstrak metanol karena pelarut metanol merupakan pelarut polar yang dapat melarutkan senyawa polar dan juga dapat melarutkan senyawa non polar. Ekstrak metanol sangat aktif sebagai antioksidan dibandingkan ekstrak etil asetat dan heksana, hal ini karena kandungan senyawa-senyawa kimia aktif (fenolik total) yang lebih tinggi terdapat pada ekstrak metanol.

3.6. Aktivitas Antibakteri

Secara tradisional daun pacing digunakan sebagai obat diare, gatal-gatal, bisul dan infeksi pada kulit yang umumnya disebabkan oleh infeksi pada bakteri[13]. Hal ini membuktikan bahwa tanaman pacing memiliki potensi untuk menghambat pertumbuhan bakteri. Pengujian aktivitas antibakteri menggunakan metode

difusi cakram ditandai dengan adanya zona inhibisi (bening) disekitar kertas cakram[14]. Data hasil dari pengamatan uji dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Hasil uji antibakteri

Ekstrak	Konsentrasi (% b/v)	Diameter Zona Hambat (mm)	
		<i>S.aureus</i>	<i>E. coli</i>
Heksana	20	0,915	0,050
	25	0,950	0,250
	30	1,220	0,290
	35	1,375	0,335
Etil Asetat	20	1,530	1,105
	25	1,895	1,510
	30	3,965	2,230
	35	5,190	2,340
Metanol	20	1,265	1,290
	25	1,460	1,315
	30	2,785	1,520
	35	3,050	1,760
Kontrol positif (kloramfenikol)	0,25	21,495	18,765
Kontrol negatif (heksana, etil asetat, metanol)	-	0	0

bakteri terhambat[16]. Menurut Davis and Stout (1971) respon hambatan dalam pertumbuhan bakteri dapat diklasifikasikan pada Tabel 7.

Tabel 7. Klasifikasi respon hambatan pertumbuhan bakteri

Diameter zona bening	Respon hambatan pertumbuhan
>5 mm	Lemah
5-10 mm	Sedang
10-20 mm	Kuat
>20 mm	Sangat kuat

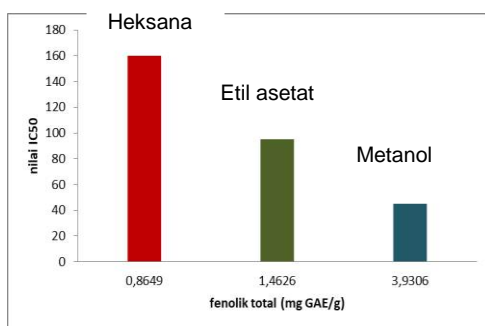
Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat pada konsentrasi 35% termasuk kategori sedang dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan lemah dalam menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli*, sedangkan pada ekstrak metanol dan heksana termasuk kategori lemah terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. coli*. Kloramfenikol sebagai kontrol positif dengan konsentrasi 0.25% termasuk kategori sangat kuat dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Kloramfenikol merupakan antibiotik yang mempunyai spektrum luas karena dapat menghambat atau membunuh bakteri Gram positif dan Gram negatif. Kontrol negatif yang digunakan yaitu masing-masing pelarut dari

ekstrak. Kontrol negatif tidak memiliki zona bening di sekitar kertas cakram, sehingga dapat dipastikan bahwa zona bening yang dihasilkan murni berasal dari ekstrak daun tidak dipengaruhi oleh pelarut[17].

Hasil ekstrak daun pacing menunjukkan bahwa bakteri Gram negatif (*Escherichia coli*) lebih sukar dihambat dari bakteri Gram positif (*Staphylococcus aureus*). Hal ini dikarenakan dinding sel bakteri Gram positif lebih sederhana dibandingkan dengan bakteri Gram negatif. Bakteri Gram positif memiliki struktur dinding sel dengan lebih banyak peptidoglikan, sedikit lipid dan asam teikoat, sedangkan pada bakteri Gram negatif memiliki 3 lapisan yaitu lipopolisakarida, protein dan fosfolipid[18]. Hal ini menyebabkan senyawa antibakteri lebih sulit masuk ke dalam sel pada bakteri gram negatif sehingga aktivitas antibakteri lemah. Bakteri dapat dihambat pertumbuhannya dengan merusak dinding sel, merubah molekul protein, merubah permeabilitas sel dan mengkoagulasi protoplasma. Rusaknya dinding sel akan terhambatnya pertumbuhan bakteri dan pada akhirnya bakteri akan mati. Hasil uji aktivitas antibakteri menunjukkan ekstrak daun pacing mampu digunakan sebagai antibakteri terhadap *S.aureus* dan *E. Coli*.

3.7. Hubungan kandungan fenolik total terhadap aktivitas antioksidan

Hubungan kandungan fenolik total terhadap aktivitas antioksidan dapat dilihat pada Gambar 2.



Berdasarkan Gambar 2. dapat dilihat bahwa kandungan fenolik total saling berhubungan dengan aktivitas antioksidan, dimana semakin tinggi kandungan fenolik total maka semakin rendah nilai IC₅₀ pada ekstrak sehingga semakin banyak senyawa antioksidan yang menangkal radikal bebas. Kandungan fenolik total terbanyak yaitu pada ekstrak metanol daun pacing.

4. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan terhadap daun pacing dapat disimpulkan bahwa daun pacing mengandung senyawa metabolit sekunder flavonoid, fenolik, steroid dan alkaloid. Ekstrak heksana mengandung senyawa alkaloid, ekstrak etil asetat mengandung senyawa fenolik, alkaloid dan steroid, serta ekstrak metanol mengandung senyawa flavonoid, fenolik, alkaloid dan steroid. Pengujian aktivitas antioksidan dengan menunjukkan bahwa ekstrak metanol bersifat antioksidan sangat kuat, ekstrak etil asetat menunjukkan sifat antioksidan yang kuat, sedangkan ekstrak heksana menunjukkan sifat antioksidan lemah. Kandungan fenolik total pada ekstrak metanol, etil asetat dan heksana secara berturut-turut adalah 3,9510; 1,4702; 0,8693 mg GAE/g sampel. Pada uji aktivitas antibakteri menggunakan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, dimana ekstrak etil asetat bersifat sedang dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* pada konsentrasi 35% dengan diameter zona hambatnya 5,190 mm, sedangkan pada ekstrak heksana dan metanol bersifat lemah. Terhadap bakteri *E. coli* semua ekstrak bersifat lemah dalam menghambat pertumbuhan bakteri.

Referensi

1. Saleмна Pinca. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak n-Heksana Daun Tumbuhan Maja (*Aegle marmelos* Linn.). Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Makasar. Makasar. 2014. 3(2).185-190.
2. Supomo, Warnida, Husnul, Sahid Baguz Moch. Perbandingan Metode Ekstrak Umbi Bawang Rambut (*Allium chinense* G. Don) Menggunakan Pelarut Etanol 70% terhadap Rendemen dan Skrining Fitokimia. Kalimantan Timur. Jurnal Riset Kefarmasian Indonesia. 2019, 1(1), 30.
3. Septrilia Vivi. Inventarisasi Tumbuhan Obat yang Dimanfaatkan oleh Masyarakat Desa Durian Pandaan Kabupaten Pesisir Selatan. STKIP PGRI. Sumatera Barat. 2020, 4(1), 40-47.
4. Yubernita: Juniarti: Analisis Senyawa Metabolit Sekunder dari Ekstrak Metanol Daun Surian yang berpotensi sebagai Antioksidan. Departemen Biokimia Fakultas

- Kedokteran Universitas YASRI. Jakarta. 2011, 15 (1), 48-52.
5. Rahamwati, Sinardi, Iryani, Sry A. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Bunga Brokoli (*Brassica oleracea* L. Var *Italica*) dengan Metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrihidrazil). Teknik Kimia Universitas Fajar. Makasar. 2017.
 6. Fakhriah, Kurniasih Eka, Adriana, Rusyid. Sosialisasi Bahaya Radikal Bebas dan Fungsi Antioksidan. *Jurnal Vokasi*. 2019. 3(1).
 7. Wijayakusuma, H., AS. Wiriawan, T. Yaputra, Tanaman Pacing *Costus Speciosus* (Koenig) J.E Smith. 2014.
 8. Al-Atlas Ahmed, El-Shager Nagwa, A. Gamal. Antiinflammatory Sesquiterpene from *Costus speciosus* Rhizomes. *Journal of Ethnopharmacology*. 2015. 365-374.
 9. Kikuzaki H., Hisamoto M., Hirose K., Akiyama K., and Taniguchi H. Antioxidant Properties of Ferulic Acid and its Related Compound. *J Agric Food Chem* 2002;50:2161-2168.
 10. Hartanto Salpa, Fitmawati, Sofiyanti Nery. Studi Etnobotani Famili Zingiberaceae dalam Kehidupan Masyarakat Lokal di Kecamatan Pangean Kabupaten Kuantan Singingi, Riau. Universitas Negeri Semarang. 2014; 6 (2).
 11. Sari Rafiks, Muhani Mutiara, Inarah Fajriaty. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Gaharu (*Aquilaria microcarpa* Baill.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Proteus mirabilis*. Fakultas Farmasi. Tanjungpura. 2017.
 12. Ricki Hardiana, Rudiansyah, Zaharah. Aktivitas Antioksidan Senyawa Golongan Fenol dari Beberapa Jenis Tumbuhan Famili Malvaceae. *J. Kim. Khatulistiwa*. 2012. 8-13.
 13. Asmaliyah, Hadi E.E.W, Waluyo Effendi Agus, Muslimin Imam. Kandungan Fitokimia Beberapa Tumbuhan Obat di Pesisir Pantai dan Lahan Basah serta Potensinya sebagai Pestisida Nabati. Palembang, 2017; 165-178.
 14. Widyasanti Asri, Rohdiana Dadan, Ekutama Novriana. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Teh Putih (*Camellia sinensis*) dengan Metode DPPH (2,2 dipenil-1-pikrihidrazil). *Gabung Ciwidey*. Jawa Barat. 2016. 1(1).
 15. Fransisca, D.; Kahanjak, D.N.; Frethernety, A. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Sungkai (*Peronema canescens* Jack) terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* dengan Metoda Difusi Cakram Kirby-Bauer. *Jurnal Pengelolaan Lingkungan Berkelanjutan*. 2020, 4(1), 460-470.
 16. Sari Rafiks, Muhani Mutiara, Inarah Fajriaty. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Gaharu (*Aquilaria microcarpa* Baill.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Proteus mirabilis*. Fakultas Farmasi. Tanjungpura. 2017.

EFEK EKSTRAK ETANOL DARI MIKROALGA *Scenedesmus dimorphus* SEBAGAI ANTI-OBESITAS PADA MENCIT PUTIH (*Mus musculus L.*)

Armaini*, Sumaryati Syukur, Ambar Choirunisa

Laboratorium Biokimia, Jurusan Kimia, FMIPA Universitas Andalas,
Kampus Limau Manis, Padang, 25163 Indonesia

*E-mail: armaini59@gmail.com

Abstrak: Penderita obesitas di Indonesia mengalami peningkatan setiap tahunnya. Obesitas dapat memicu timbulnya penyakit lain yang lebih serius dan berbahaya bagi kesehatan. Mikroalga *Scenedesmus dimorphus* memiliki kandungan senyawa bioaktif karatenoid yang bermanfaat sebagai anti-obesitas dan anti-diabetes. Penelitian ini bertujuan untuk menguji efek dari ekstrak etanol mikroalga *Scenedesmus dimorphus* terhadap metabolisme lipid pada mencit obesitas yang diberi diet tinggi lemak (*High Fat Diet*). Ekstraksi biomassa mikroalga *Scenedesmus dimorphus* dilakukan dengan menggunakan metode *ethanol soxhlet extraction*. Mencit jantan berusia enam hingga delapan minggu dibagi menjadi 6 kelompok dengan pembagian kontrol normal, obesitas, obat, dan ekstrak etanol dosis 5;10;15 mg/20 g BB mencit diinduksikan secara oral serta diberi perlakuan HFD. Berat badan dan asupan makanan diamati setiap hari serta profil lipid dari sampel darah diuji setiap minggu. Berdasarkan hasil penelitian efek ekstrak etanol dosis 15 mg/20 g BB merupakan dosis efektif terhadap metabolisme lipid mencit yaitu mengalami penurunan kadar total kolesterol, trigliserida, *Low Density Lipoprotein* (LDL) berturut-turut sebesar 29,13%, 26,19%, 36% dan peningkatan kadar *High Density Lipoprotein* (HDL) sebesar 58,82%, serta penurunan berat badan mencit. Hasil dari penelitian ini menunjukkan potensi ekstrak etanol dari mikroalga *Scenedesmus dimorphus* untuk mengendalikan obesitas sebagai dampak pemberian HFD terhadap mencit putih (*Mus musculus L.*).

Kata kunci: *Scenedesmus dimorphus*, mikroalga, karatenoid, profil lipid, obesitas

1. Pendahuluan

Gaya hidup manusia modern saat ini dipengaruhi kebiasaan mengkonsumsi makanan dan minuman siap saji yang cenderung memiliki nilai gizi yang rendah serta diikuti dengan kebiasaan jarang berolahraga[1]. Jumlah penduduk dewasa (usia di atas 18 tahun) di Indonesia yang mengalami obesitas mengalami peningkatan setiap tahun[2]. Penderita obesitas cenderung memiliki tingkat kolesterol, trigliserida dan LDL (*low density lipoprotein*) lebih tinggi serta HDL (*high density lipoprotein*) yang rendah daripada kondisi normal yang dapat diidentifikasi dalam darah sehingga menyebabkan efek negatif untuk kesehatan sebagai efek dari metabolik sindrom[3]. Obesitas dapat menyebabkan resiko penyakit berupa gangguan metabolik termasuk sistemik, stres oksidatif otot, peradangan dan resistensi yang meliputi ketersediaan gizi berlebih pada transfer jaringan, terutama lemak jenuh dan glukosa

serta disfungsi jaringan adiposa terhadap penyimpanan lipid. Penelitian terbaru menunjukkan bahwa deposisi lipid ektopik dapat mengganggu pergantian protein otot. Aktivitas fisik yang rendah dapat mempengaruhi ketidakseimbangan metabolisme lipid dalam tubuh[4]. Hal yang dapat dilakukan untuk terhindar atau mengobati obesitas yaitu mengontrol jumlah kalori yang masuk ke dalam tubuh atau mengkonsumsi obat anti-obesitas. Mekanisme obat anti-obesitas ini yaitu dengan cara menghambat kerja lipase usus, menurunkan penyerapan lemak, meningkatkan ekskresi lemak, dan menekan nafsu makan[5].

Mikroalga menghasilkan berbagai macam senyawa, seperti pigmen fotosintesis (karotenoid dan klorofil), asam lemak tak jenuh, vitamin, mineral, serat, polisakarida, dan peptida. Mikroalga menjadi daya tarik yang besar dalam beberapa tahun terakhir karena berpotensi untuk diaplikasikan dalam industri nutraceutical dan farmasi,

dan merupakan sumber utama untuk produk obat bioaktif dan bahan makanan dengan sifat anti-oksidan, anti-inflamasi, anti-kanker, dan anti-mikroba[6]. Salah satu mikroba tumbuhan air yang memiliki komponen menarik berupa antioksidan adalah mikroalga *Scenedesmus dimorphus* yang mengandung komponen bioaktif senyawa fenolik yang mempunyai aktivitas biologis sebagai antihiperlipidemia, antikanker dan antioksidan[7]. Kandungan ekstrak etanol dalam mikrolaga *Scenedesmus dimorphus* berupa pigmen serta senyawa antioksidan seperti β -karoten, klorofil a dan b, astaxanthin, lutein, limonen serta asam lemak yang larut dalam pelarut etanol[8].

Asam lemak omega-3 pada *Scenedesmus dimorphus* dapat berfungsi untuk menurunkan kadar LDL dan menaikkan kadar HDL dalam darah yang disebabkan oleh kadar lemak yang tinggi dalam darah akibat mengkonsumsi makanan tinggi lemak secara berlebihan. *Scenedesmus dimorphus* sebagai nutraceutical dapat mengendalikan obesitas dan mengobati penyakit hati berlemak non-alkohol akibat terjadinya metabolik sindrom yang menyebabkan peningkatan kadar total kolesterol, trigliserida, LDL akibat obesitas[4]. *Scenedesmus dimorphus* mengandung senyawa antioksidan (β -karoten, astaxantin, lutein) yang sangat baik untuk menangkal radikal bebas dalam tubuh sehingga metabolisme dalam tubuh dapat lebih lancar[9]. Berdasarkan kandungan gizi tersebut maka mikroalga dapat menjadi solusi alternatif yang memiliki prospek yang bagus di masa mendatang sebagai salah satu sumber daya hayati. Penelitian ini dilakukan untuk menganalisis manfaat penggunaan ekstrak dari mikroalga *Scenedesmus dimorphus* untuk meningkatkan aktivitas anti-obesitas dalam tubuh.

2. Metodologi Penelitian

2.1 Alat

Alat-alat yang digunakan adalah peralatan gelas (Pyrex), sentrifus (Hettich Zentrifugen Mikro 200R), autoclave (GEA model YX-18LDJ), neraca analitik (KERN ABJ220-4NM), akuarium, spektrofotometer UV-Vis (Thermo Scientific Genesys 20), kandang mencit, wadah air minum, lumpang dan alu, jarum per oral (OneMed), kertas Whatman No. 1, aluminium foil, kertas label, rangkaian

sokletasi (Pyrex) dan rotary evaporator (BUCHI Rotavapor RII).

2.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan yaitu mikroalga *Scenedesmus dimorphus*, mencit (*Mus musculus L.*) putih jantan, etanol 96% (Aldrich), akuades, Xenical orlistat (Roche), Bold's Basal Medium (BBM) yang disiapkan dengan zat standar Pro Analysis (PA) Merck yaitu NaNO_3 , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, NaCl , K_2HPO_4 , KH_2PO_4 , $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, H_3BO_3 , EDTA, FeH_2SO_4 , dan trace element, serta pakan mencit dan makanan tinggi lemak (high fat diet).

2.3 Tahapan Penelitian

2.3.1 Persiapan Kultivasi Mikroalga *Scenedesmus dimorphus*

Mikroalga *Scenedesmus dimorphus* yang digunakan merupakan koleksi Laboratorium Biokimia Universitas Andalas dan ditumbuhkan dengan menggunakan medium BBM yang telah dibuat sebelumnya, lalu dikultivasi isolat mikroalga sebanyak 5 liter dalam botol kultur. Selanjutnya dilakukan pengukuran absorban setiap dua hari sekali dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 550 nm untuk menentukan masa panen. Setelah didapatkan perbedaan nilai absorban yang tidak terlalu signifikan, maka mikroalga *Scenedesmus dimorphus* dipanen dan pengerjaan dilanjutkan didalam wadah akuarium ukuran 44 liter agar hasil panen yang didapatkan lebih banyak dan efisien.

2.3.2 Ekstraksi Mikroalga *Scenedesmus dimorphus*

Mikroalga *Scenedesmus dimorphus* yang tersedia di Laboratorium Biokimia Jurusan Kimia Universitas Andalas dikeringkan dalam suhu ruang, lalu dihaluskan menggunakan lumpang dan alu, kemudian diekstraksi sebanyak 10 gram menggunakan pelarut etanol dan metode sokletasi selama 14 jam. Ekstrak dipekatkan dengan menggunakan rotary evaporator pada suhu 30°C.

2.3.3 Perlakuan Hewan Percobaan

Subjek penelitian ini adalah mencit (*Mus musculus L.*) jantan putih yang diperoleh dari Fakultas Farmasi Universitas Andalas dengan berat badan mencit rata-rata 20-30 gram. Hewan uji diaklimatisasi selama dua minggu dan ditimbang berat badan serta diukur panjang tubuh mencit dengan rumus Rohrer Index sebagai berikut:

$$Rohrer\ index = \frac{\text{berat badan (g)}}{\text{naso-anal length (cm)}^3} \times 10^3$$

Apabila mencit telah mengalami obesitas, maka ditambahkan ekstrak etanol mikroalga *Scenedesmus dimorphus* sesuai perlakuan dengan dosis tertentu sesuai kelompok perlakuan yang dilakukan satu jam setelah mencit diberi makan. Hewan uji dibagi menjadi enam kelompok dan ditempatkan dalam kandang dengan siklus 12 jam terang dan 12 jam gelap pada suhu ruang yang dibersihkan secara

berkala. Pemberian makan mencit sesuai perlakuan dilakukan tiga kali sehari dan air disediakan didalam wadah minum mencit. Adapun perlakuan terhadap hewan percobaan setelah periode aklimatisasi yaitu mencit dibagi kedalam enam kelompok yang masing-masing berisi lima ekor. Pakan mencit *High Fat Diet* (HFD) yang digunakan dalam penelitian ini yaitu keju sebanyak 20 g/hari pada masing-masing kelompok. Perlakuan dilakukan selama 28 hari dan kelompok perlakuan dibagi sebagai berikut.

Tabel 1. Perlakuan terhadap hewan percobaan

No.	Kelompok	Perlakuan	Waktu Pengamatan (Hari)	Parameter Uji
1.	Kelompok A (Kontrol normal)	Pakan mencit dan air	7-28	1. Berat badan, panjang badan, Rohrer Index
2.	Kelompok B (Kontrol obesitas)	Pakan mencit, HFD dan air		2. Analisis profil lipid (Total kolesterol, Trigliserida, HDL, dan LDL)
3.	Kelompok C (Kontrol obat)	Pakan mencit, HFD, Orlistat, dan air		Semua parameter diuji pada setiap perlakuan
4.	Kelompok D (Kontrol dosis rendah)	Pakan mencit, HFD, ekstrak mikroalga <i>Scenedesmus dimorphus</i> 5 mg/20 g BB, dan air		
5.	Kelompok E (Kontrol dosis sedang)	Pakan mencit, HFD, ekstrak mikroalga <i>Scenedesmus dimorphus</i> 10 mg/20 g BB, dan air		
6.	Kelompok F (Kontrol dosis tinggi)	Pakan mencit, HFD, ekstrak mikroalga <i>Scenedesmus dimorphus</i> 15 mg/20 g BB, dan air		

2.3.4 Pemeriksaan Profil Lipid

Pengambilan darah mencit dilakukan dengan mengambil darah diekor. Ujung ekor mencit dibersihkan dengan etanol 96%, kemudian dengan gunting yang telah disterilkan ekor mencit dipotong sepanjang 5 mm dari ujung ekor. Darah yang keluar dipipet 20 µL dengan pipet otomatis dan ditampung dalam wadah untuk analisis tiap minggu. Analisis akhir dilakukan dengan cara mencit disayat dibagian leher yang dilakukan pada hari ke-28. Kemudian darah yang diambil dimasukkan ke dalam tabung. Darah yang terkumpul disentrifus selama 30 menit untuk memisahkan antara serum dan eritrositnya. Kemudian serum darah dilakukan pemeriksaan profil lipid berupa pengukuran kadar total kolesterol,

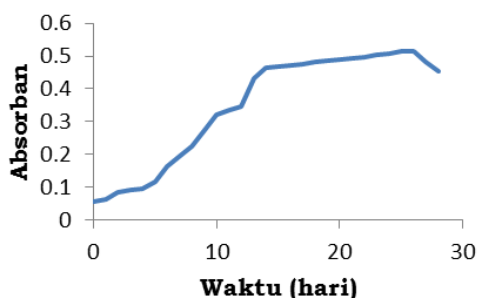
trigliserida, LDL dan HDL menggunakan alat *microlab* 300 di Laboratorium Farmakologi Universitas Andalas.

3. Hasil dan Pembahasan

3.1 Kultivasi Mikroalga *Scenedesmus dimorphus*

Pertumbuhan mikroalga *Scenedesmus dimorphus* pada Gambar 1 dapat diketahui bahwa pertumbuhan mikroalga *Scenedesmus dimorphus* terjadi dalam beberapa tahap atau fase pertumbuhan. Pada hari ke-0 hingga hari ke-2 terjadi fase lag yang merupakan fase adaptasi mikroalga *Scenedesmus dimorphus* terhadap lingkungan dalam medium baru. Fase selanjutnya yaitu fase eksponensial yang terjadi pada hari ke-3 sampai hari ke-13 ditandai dengan hasil pengukuran absorban yang

signifikan, ini menandakan bahwa mikroalga *Scenedesmus dimorphus* sedang memperbanyak sel dan dapat dilihat dari perubahan warna kultur yang semakin berwarna hijau pekat. Pada fase ini terjadi penyerapan nutrisi dari medium oleh mikroalga *Scenedesmus dimorphus* secara cepat dan biomassa yang dihasilkan pada fase ini semakin banyak sehingga nutrisi dari medium juga semakin berkurang[10].



Gambar 1. Kurva pertumbuhan mikroalga *Scenedesmus dimorphus*

Ketersediaan nutrisi yang menurun dalam medium menjadi salah satu faktor penyebab pertumbuhan mikroalga memasuki fase stationer. Fase ini ditandai dengan penambahan nilai absorban yang terbaca tidak terlalu signifikan pada hari ke-14 hingga hari ke-26. Hal ini dikarenakan pada fase stationer pertumbuhan sel mikroalga relatif tetap karena nutrisi yang terkandung dalam medium semakin sedikit dan mikroalga akan membentuk metabolit sekunder. Mikroalga *Scenedesmus dimorphus* dipanen pada fase stationer yaitu pada hari ke-21, karena pada fase stationer awal terbentuknya metabolit sekunder. Untuk memperoleh senyawa bioaktif yang akan diekstrak dari mikroalga harus dilakukan pada fase stationer karena senyawa

bioaktif termasuk metabolit sekunder. Pada hari ke-27 nilai absorban dari mikroalga *Scenedesmus dimorphus* mengalami penurunan dan akan mengalami kematian karena nutrisi dalam medium telah habis dan kecepatan pertumbuhan menjadi nol dan terjadi akumulasi racun pada mikroalga[11].

3.2 Ekstrak Etanol Mikroalga *Scenedesmus dimorphus*

Ekstrak mikroalga *Scenedesmus dimorphus* yang didapatkan merupakan *crude extract* yaitu sebanyak 120 mg/50 mL fraksi etanol atau 2,4 mg/mL fraksi etanol dan berwarna hijau kekuningan. Hal ini dikarenakan ekstrak dari mikroalga *Scenedesmus dimorphus* mengandung pigmen klorofil a dan b serta mengandung senyawa karotenoid[12]. Pada penelitian sebelumnya diketahui bahwa dalam ekstrak etanol mikroalga *Scenedesmus sp.* terdapat senyawa antioksidan yang tinggi dari senyawa fenol dan karotenoid, pigmen dan asam lemak, serta memiliki aktivitas antibakteri dan anti-jamur[13-16].

3.3 Penimbangan Berat Badan Hewan Percobaan

Hewan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini berupa mencit putih jantan galur Wistar dengan bobot tubuh sekitar 20-30 g dan usia 6-8 minggu, mencit dapat dikategorikan normal untuk mencit dewasa. Penggunaan mencit jantan dalam penelitian ini dikarenakan dari segi pemeliharaan yang lebih mudah dan faktor internal seperti hormon lebih stabil dibandingkan dengan mencit betina[17]. Aklimatisasi bertujuan agar mencit dapat beradaptasi dengan baik dalam lingkungan baru.

Tabel 2. Nilai *Röhrer Index* Awal Mencit

Perlakuan	Nilai <i>Röhrer Index</i> Mencit					Rata-rata
	Mencit 1	Mencit 2	Mencit 3	Mencit 4	Mencit 5	
A	27,12	25,89	29,27	29,55	24,74	27,314
B	29,19	21,41	25,53	26,41	22,11	24,93
C	28,62	27,77	21,33	28,57	25,44	26,346
D	28,98	26,69	25,72	26,66	25,73	26,756
E	23,78	26,28	25,06	24,62	23,7	24,688
F	20,29	27,74	18,03	22,31	20,2	21,714

Nilai *Röhrer Index* > 30 dikategorikan sebagai obesitas[18]

Setelah 14 hari masa aklimatisasi mencit kembali ditimbang untuk menentukan nilai *Röhrer Index* mencit. Berdasarkan perhitungan

nilai *Röhrer Index* mencit (Lampiran 3.) maka mencit sudah dapat diberi perlakuan karena

nilai Röhrrer Index > 30 dan mencit telah dapat diategorikan obesitas[18].

3.4 Pemeriksaan Profil Lipid

Berdasarkan data pengukuran nilai total kolesterol, trigliserida, LDL, dan HDL mencit (Tabel 2 dan 3) pada setiap kelompok

perlakuan dapat diketahui bahwa pemberian dosis ekstrak mikroalga *Scenedesmus dimorphus* 15 mg/20 g BB paling efektif dalam penurunan total kolesterol, trigliserida, LDL, dan peningkatan HDL dalam darah mencit.

Tabel 3. Data pengukuran kadar kolesterol dan trigliserida mencit

Perlakuan	Profil Lipid (mg/dL)			
	Kolesterol		Trigliserida	
	Hari ke-0	Hari ke-28	Hari ke-0	Hari ke-28
A	76,5	76	103,5	104,5
B	114,5	137,5	136	159,5
C	114,5	95	132,5	115,5
D	117,5	104,5	134,5	119,5
E	116	89	134,5	105,5
F	115	81,5	135,5	100

Menurut Galasso *et.al* (2019) kandungan omega-3, PUFA, dan polisakarida dalam ekstrak mikroalga juga dapat menurunkan kadar kolesterol dan trigliserida dalam pemberian secara *in vivo*[19]. Kandungan antioksidan dalam ekstrak mikroalga *Scenedesmus dimorphus* memberikan pengaruh dalam mencegah terbentuknya plak kolesterol dan penurunan tingkat kadar LDL. Hal ini dikarenakan LDL merupakan agen pembawa kolesterol dalam darah. Lee *et.al* (2011) menyebutkan radikal bebas yang ada dalam tubuh dapat memberikan pengaruh buruk

terhadap kesehatan karena menyebabkan LDL teroksidasi secara cepat sehingga terbentuk plak kolesterol dalam pembuluh darah yang jika dibiarkan terus menerus dapat mengakibatkan penyakit berbahaya lainnya seperti hipertensi karena aliran darah terhambat oleh perlemakan dalam pembuluh darah[20]. Herwiyarirasanta *et.al* (2010) menjelaskan mekanisme antioksidan dalam darah yaitu dengan menghambat dan mencegah LDL teroksidasi, sehingga dapat mencegah terjadinya plak dan perlemakan dalam pembuluh darah[18].

Tabel 4. Data pengukuran kadar LDL dan HDL mencit

Perlakuan	Profil Lipid (mg/dL)			
	LDL		HDL	
	Hari ke-0	Hari ke-28	Hari ke-0	Hari ke-28
A	9,55	9,6	49	51
B	20,6	26,3	33,5	26,5
C	20,55	16,1	34,5	53,5
D	20,45	17,2	34	38,5
E	20,45	14,65	34,5	42,5
F	20,55	13,15	34	54

4. Kesimpulan

Nilai penurunan kadar total kolesterol sebesar 23.27%, trigliserida 21.56%, dan LDL 28.36% pada pemberian dosis 10 mg/20 g BB dan penurunan kadar total kolesterol sebesar 29.13%, trigliserida 26.19%, LDL 36% pada pemberian dosis 15 mg/20 g BB

ekstrak mikroalga *Scenedesmus dimorphus*, lebih baik dibandingkan dengan pemberian obat orlistat dengan penurunan kadar kolesterol sebesar 17.03%, trigliserida 12.83%, LDL 21.65%. Nilai peningkatan HDL pada pemberian ekstrak mikroalga *Scenedesmus dimorphus* dosis 15 mg/20 g BB lebih tinggi yaitu sebesar 58.82%

dibandingkan dengan pemberian obat orlistat sebesar 55.07%.

5. Ucapan terima kasih

Ucapan terimakasih disampaikan kepada pihak-pihak yang telah membantu pengerjaan penelitian ini terutama untuk Laboratorium Biokimia Jurusan Kimia dan Laboratorium Farmakologi Fakultas Farmasi Universitas Andalas.

Referensi

1. Bhaskar, R. Ola, M. **2012**, Junk Food: Impact on Health, *Journal of Drug Delivery & Therapeutics*. 2(3): 67-73
2. Riskesdas, K. **2018**, Hasil Utama Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS). *J. Phys. A Math. Theor.* 44 (8), 1-200.
3. Armaini, A. Dharma, A. Salim, M. **2020**, The nutraceutical effect of *Scenedesmus dimorphus* for obesity and nonalcoholic fatty liver disease-linked metabolic syndrome. *J Appl Pharm Sci.* 10(05):070-076.
4. Barazzoni, R. Bischoff, S.C. Boirie, Y. Busetto, L. Cederholm, T. Dicker, D. Toplak, H. Van Gossum, A. Yumuk, V. Vettor, R. **2018**, Sarcopenic obesity: Time to meet the challenge, *The Journal of Nutritional Biochemistry.* 04-018
5. Lipton Institute of Tea. **2007**, Green tea catechins and body shape, *Lipton Institute of Tea*
6. Zorita, S.G. Trepiana, J. Arceo, M.G. **2020**, Anti-Obesity Effects of Microalgae, *International Journal of Molecular Science.* 21- 41
7. Godard, M.D. Kelly, E.W. Ventura, G. Soteras, J. Baccou, J. Ristol and J. Rounet. **2009**, Polysaccharides from the green algae *Ulva rigida* improve the antioxidants status and prevent fatty streak lesions in the high cholesterol fed hamster, an animal model on nutritionally induced atherosclerosis, *Food Chemistry.* Vol.115. 1 (34) : 176-180.
8. Guedes, A. C. Amaro, H. M. Malcata, F. X. **2011**, Microalgae as Sources of Carotenoids. *Marine Drugs.* 9. 1660-3397
9. Armaini. Salim, M. Rinaldi: **2016**, Influence of Urea Concentration on Biomassa, pigment, lipid and Protein content of *Scenedesmus dimorphus* Microalgae, *Der Pharma Chemical.* 8 (13): 22 -27
10. Elfiza W. N; Dharma A.; Nasir N. Penapisan Mikroalga Penghasil Karotenoid serta Studi pengaruh Stress Nitrogen dan Fosfor terhadap Produksi β -karoten pada Mikroalga *Oocystis sp.*, *JPB Kelautan dan Perikanan.* **2019**, 14.1.9-20
11. Hadiyanto; Azim M. Mikroalga: Sumber Pangan dan Energi Masa Depan, *UPT Universitas Diponegoro Press.* **2012**, 978-602-097-298-3
12. Ishaq, A. G. Matias-Peralta, H. M. Basri, H. **2016**, Bioactive Compounds from Green Microalga *Scenedesmus* and Its Potential Applications: A Brief Review. *Pertanika J. Trop. Agric. Sci.* 39 (1), 1-16.
13. Abedin, R. M. A. Taha, H. M. **2008**, Antibacterial and antifungal activity of cyanobacteria and green microalgae. Evaluation of medium components by Plackett-Burman design for antimicrobial activity of *Spirulina Platensis*. *Global Journal of Biotechnology and Biochemistry.* 3(1), 22-31.
14. Catarina, G. A. Barbosa, C. R. Amaro, H. M. Pereira, C. I. Xavier Malcata, F. **2011**, Microalgal and cyanobacterial cell extracts for use as natural antibacterial additives against food pathogens. *International Journal of Food Science & Technology,* 46(4), 862-870.
15. Koen, G. Koenraad, M. Ilse, F. **2012**, Antioxidant potential of microalgae in relation to their phenolic and carotenoid content. *Journal of Applied Phycology,* 24(6), 1477-1486.
16. Ördög, V. Stirk, W. A. Lenobel, R. Bancirova, M. Strnad, M. Van, S. J. Szigeti, J. Nemeth, L. **2004**, Screening microalgae for some potentially useful agricultural and pharmaceutical secondary metabolites. *Journal of Applied Phycology,* 16(4), 309-314.
17. Ferreira V. S.; Pinto R. F.; Sant'Anna C. Low light intensity and nitrogen starvation modulate the chlorophyll content of *Scenedesmus dimorphus*, *Journal of Applied Microbiology.* **2015**, 10.1111

18. Herwiyarirasanta, B.A. Eduardus. **2010**, Effect of Black Soyben Extract Supplementation in Low Density Lipoprotein Level of Rats (*Rattus norvegicus*) With High Fat Diet, *Journal Universitas Airlangg.* Vol. 10 No. 1.
19. Galasso, C. Gentile, A. Orefice, I. **2019**, Microalgal Derivatives as Potential Nutraceutical and Food Supplements for Human Health: A Focus on Cancer Prevention and Interception, *Nutrients.* 11, 1226
20. Lee, S-II. Kim, J.W. Lee, Y.K. Yang, S.H. Lee, I. Suh, J.W. and Kim, S.D. **2011**, Anti-obesity Effect of *Monascus pilosus* Mycelial Extract in High Fat Diet-induced Obese Rat, *Journal Applied Biomolecular Chemistery*

IDENTIFIKASI METABOLIT SEKUNDER DAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DARI DAUN SALAM (*SYZYGIUM POLYANTHUM* (WIGHT) WALP.)

Norman Ferdinal, Afrizal, Indria Navira*

Laboratorium Kimia Organik Bahan Alam, Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Andalas
Jurusan Kimia FMIPA Unand, Kampus Limau Manis, 25163
*E-mail: indrianaaviraaa00@gmail.com

Abstract : *Syzygium polyanthum* (Wight) Walp atau dikenal tumbuhan salam memiliki beberapa keunggulan yang biasa digunakan secara luas sebagai bumbu masakan. Selain itu, daun salam memiliki manfaat sebagai pengobatan alternatif. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan kandungan metabolit sekunder, uji aktivitas antioksidan, dan hubungan fenolik dengan antioksidan pada ekstrak daun salam. Identifikasi metabolit sekunder diperoleh dari hasil ekstraksi daun salam menggunakan pelarut heksana, etil asetat dan metanol. Metabolit sekunder pada ekstrak heksana terdapat alkaloid dan steroid. Pada ekstrak etil asetat dan metanol terdapat senyawa flavonoid, fenolik, alkaloid, triterpenoid, dan steroid. Uji Aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode DPPH (1,1-difenil-2-dipikrilhidrazil) dan pengukuran kadar fenol dengan metode Folin-Ciocalteu. Hasil dari uji aktivitas antioksidan ekstrak metanol (IC_{50} 9,34 mg/L) dan etil asetat (IC_{50} 14,49 mg/L) dikategorikan sebagai antioksidan kuat, sedangkan ekstrak heksana (IC_{50} sebesar 273,55 mg/L) termasuk aktivitas antioksidan lemah. Hasil uji kandungan fenolik total yang didapatkan untuk ekstrak heksana, etil asetat, dan metanol secara berurutan adalah 0,1567; 1,9766, dan 3,1657 mg GAE/10 mg ekstrak kering.

Kata Kunci: *Syzygium polyanthum* (Wight) Walp., Aktivitas Antioksidan, Fenolik Total

1. Pendahuluan

Indonesia merupakan negara dengan hutan tropis sangat besar ketiga di dunia (setelah Brazil serta Zaire) dan memiliki keanekaragaman hayati dengan berbagai manfaat, ini menjadikan sumber keanekaragaman hayati sebagai dasar pengobatan tradisional serta temuan untuk industri farmasi di masa mendatang. Tumbuhan sebagai sumber keanekaragaman hayati menghasilkan metabolit sekunder yang berpotensi sebagai antioksidan, zat pewarna, peningkat aroma santapan, parfum, insektisida serta obat [1].

Syzygium polyanthum ataupun yang dikenal dengan nama daun salam merupakan salah satu spesies dari famili *Myrtaceae* yang digunakan sebagai bumbu masak maupun obat terutama di daerah Asia Tenggara seperti Malaysia dan Indonesia[2]. Keberadaan *S. polyanthum* sudah umum dalam masyarakat dan mudah didapatkan dan biasanya dimanfaatkan sebagai salah satu bumbu dapur atau rempah yaitu penyedap karena memiliki aroma khas yang bisa menambah kelezatan masakan[3]. Selain itu, *Syzygium polyanthum* merupakan salah satu tanaman yang dimanfaatkan masyarakat untuk pengobatan alternatif seperti menurunkan kolesterol,

kencing manis, hipertensi, gastritis, dan diare[4]. Studi genus *Syzygium* ini menunjukkan potensi sumber antioksidan yang besar karena banyak konstituen fenolik dan flavonoid. Penemuan ini menunjukkan kemungkinan *S. polyanthum* memiliki antioksidan yang tinggi[5].

Berdasarkan analisis fitokimia *Syzygium polyanthum* mengandung berbagai metabolit sekunder seperti *essential oils*, tanin, flavonoid, terpenoid[6]. Kandungan senyawa flavonoid yang terdapat pada *Syzygium polyanthum* dapat berperan sebagai antioksidan alami. Antioksidan didefinisikan sebagai senyawa yang mampu menunda, memperlambat atau menghambat reaksi oksidasi makanan atau obat. Antioksidan merupakan zat yang mampu melindungi sel melawan kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas (*Reactive Oxygen Species*)[7]. Antioksidan dapat membantu melindungi tubuh manusia melawan kerusakan yang disebabkan oleh senyawa oksigen reaktif (*ROS; Reactive Oxygen Species*) dan radikal bebas lainnya. Akibat reaktifitas yang tinggi, radikal bebas dapat merusak berbagai sel makromolekul, termasuk protein, karbohidrat, lemak dan asam nukleat dan dapat menjadi penyebab dari beberapa penyakit degeneratif

dan penyakit kronis. Banyak penelitian telah membuktikan manfaat mengonsumsi tanaman berkhasiat antioksidan, dapat menurunkan resiko penyakit jantung, kanker, dan penyakit degeneratif lain[8].

Alam sudah menyediakan berbagai macam sumber antioksidan yang efektif dan cukup aman untuk dikonsumsi seperti vitamin C, vitamin A, flavonoid, fenolik dan lainnya. Hal tersebut mendorong untuk melakukan eksplorasi kekayaan bahan alam sumber antioksidan yang salah satu kekayaan alam tersebut berasal dari daun salam (*Syzygium polyanthum*). Penelitian ini bertujuan untuk menentukan kandungan metabolit sekunder pada daun salam (*Syzygium polyanthum*) serta uji aktivitas antioksidan yang terkandung didalamnya.

2. Metodologi Penelitian

2.1. Alat

Alat-alat yang digunakan adalah neraca analitik, botol berwarna gelap, gerinda, seperangkat alat destilasi, kertas saring, beberapa peralatan gelas, *rotary evaporator*, dan spektrofotometer *Shimadzu Visible*.

2.2. Bahan

Bahan yang digunakan untuk maserasi sampel daun salam menggunakan pelarut heksana, etil asetat dan metanol yang telah dilakukan destilasi pelarut. Pereaksi untuk uji fitokimia adalah kloroform, sianidin test (bubuk magnesium dan asam klorida pekat) untuk identifikasi flavonoid; besi (III) klorida untuk identifikasi fenolik; natrium hidroksida untuk identifikasi kumarin dan asam klorida untuk identifikasi saponin: pereaksi Mayer, asam sulfat 2 N, kloroform-amoniak 0,05 M untuk identifikasi alkaloid dan pereaksi Liebermann Burchard (anhidrida asetat dan asam sulfat pekat) untuk identifikasi triterpenoid dan steroid; Bahan yang digunakan untuk uji bioaktivitas adalah DPPH dan asam askorbat untuk uji antioksidan; natrium karbonat 20%, reagen Folin-Ciocalteu, asam galat, dan aquades untuk uji kandungan fenolik total.

2.3 Prosedur Penelitian

2.3.1 Preparasi sampel dan identifikasi tumbuhan salam

Sampel daun salam diambil di Kapalo Koto, Pauh, Kota Padang, Provinsi Sumatera Barat. Sampel daun salam segar dipotong kecil-kecil kemudian dikering anginkan selama beberapa minggu pada udara terbuka tanpa terkena cahaya matahari langsung. Lalu sampel dihaluskan dengan alat gerinda dan

didapatkan sampel dalam bentuk bubuk kering. Beberapa bagian sampel segar tumbuhan salam seperti ranting dan daun dilakukan identifikasi tumbuhan di Herbarium Universitas Andalas (ANDA), Jurusan Biologi FMIPA Universitas Andalas.

2.3.2 Ekstraksi sampel daun salam

Sampel kering daun salam yang telah dihaluskan sebanyak 1300 gram di ekstrak menggunakan metode maserasi bertingkat. Metode maserasi bertingkat umumnya diawali dengan ekstraksi menggunakan pelarut yang bersifat non polar ke pelarut bersifat polar. Proses awal dilakukan dengan merendam sampel daun salam dengan pelarut heksana. Perendaman berlangsung selama 48 jam kemudian sampel disaring dan dipisahkan dari ampasnya dengan kertas saring *Whatman* dan maserasi dihentikan sampai filtrat yang dihasilkan sudah mulai bening. Hasil filtrat diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40°C, selanjutnya diperoleh ekstrak pekat heksana. Ampas dari hasil maserasi heksana dikering anginkan, kemudian dimaserasi kembali dengan pelarut etil asetat dengan perlakuan yang sama dengan pelarut heksana dan didapatkan ekstrak pekat etil asetat. Selanjutnya, dilakukan ekstraksi dengan pelarut metanol dengan cara yang sama sampai didapatkan ekstrak pekat metanol.

2.3.3 Pengujian Profil Fitokimia Sampel

Ekstrak hasil maserasi pelarut heksana, etil asetat dan metanol dilakukan uji fitokimia. Masing-masing ekstrak dimasukkan kedalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 5 mL aquades dan 5 mL kloroform, larutan dikocok dan dibiarkan sampai terbentuk dua lapisan air dan kloroform. Lapisan air bagian atas digunakan untuk pemeriksaan senyawa flavonoid, fenolik dan saponin, sedangkan lapisan kloroform untuk pemeriksaan senyawa triterpenoid dan steroid.

a. Uji flavonoid

Lapisan air diambil sebanyak 1 mL dimasukkan kedalam tabung reaksi, ditambahkan asam klorida pekat dan sedikit serbuk magnesium, terbentuknya warna jingga sampai merah menunjukkan positif mengandung senyawa flavonoid.

b. Uji Fenolik

Lapisan air diambil sebanyak 1 mL dimasukkan kedalam tabung reaksi, ditambahkan larutan besi (III) klorida 5%

beberapa tetes dan diamati perubahan warna larutan. Terbentuknya warna biru sampai hijau pekat menandakan positif mengandung senyawa fenolik.

c. Uji Saponin

Lapisan air diambil sebanyak 2 mL dimasukkan kedalam tabung reaksi kemudian dikocok kuat secara vertikal. Terbentuknya busa yang stabil dan tidak hilang (\pm 5 menit) pada saat ditambahkan beberapa tetes HCl menunjukkan positif mengandung senyawa saponin.

d. Uji Triterpenoid dan Steroid (Liebermann Burchard)

Lapisan kloroform diambil dan diteteskan pada dua lubang plat tetes. Kemudian ditambahkan asam sulfat pekat dan anhidrida asetat (*Liebermann Burchard*) dan untuk lubang kedua dijadikan sebagai pembanding. Terbentuknya pewarnaan merah, menandakan positif mengandung senyawa triterpenoid dan apabila terbentuk pewarnaan hijau atau biru, menandakan positif mengandung senyawa steroid.

e. Uji Alkaloid

Hasil ekstraksi heksana, etil asetat, dan metanol daun salam dimasukkan masing-masing ekstrak kedalam tabung reaksi, lalu ditambahkan 5 mL kloroform-amoniak 0,05 N lalu ditambahkan asam sulfat 2 N, dikocok dan dibiarkan sampai terbentuk dua lapisan. Lapisan asam diambil dan dipindahkan kedalam tabung reaksi lain kemudian ditambahkan pereaksi Mayer. Terbentuknya endapan berwarna putih menunjukkan positif mengandung senyawa alkaloid

2.3.3 Penentuan Kandungan Fenolik Total Ekstrak Daun Salam dengan Metode Folin-Ciocalteu

a. Pembuatan dan Pengukuran Larutan Standar Asam Galat

Asam galat ditimbang sebanyak 10 mg dan dilarutkan dengan metanol di dalam labu ukur 10 mL sehingga didapatkan larutan induk dengan konsentrasi 1000 mg/L. Larutan induk diencerkan untuk membuat larutan standar dengan variasi konsentrasi 10, 20, 40, 60, 80 dan 100 mg/L. Masing-masing larutan dipipet sebanyak 0,5 mL dan dimasukkan kedalam labu ukur 10 mL kemudian ditambahkan 0,5 mL reagen Folin-Ciocalteu. Campuran tersebut didiamkan selama 5 menit. Selanjutnya, masing-masing labu ditambahkan 1 mL larutan natrium karbonat 20% (b/v) dan dilarutkan dengan aquades

hingga tanda batas. Larutan didiamkan selama 2 jam dan absorbansi larutan diukur pada panjang gelombang 765 nm, sehingga didapatkan persamaan regresi dari kurva kalibrasi larutan standar.

b. Penentuan Kandungan Fenolik total dari Ekstrak Daun Salam

Masing-masing ekstrak (heksana, etil asetat, dan metanol) ditimbang sebanyak 10 mg dan dilarutkan dalam labu ukur 10 mL menggunakan metanol sehingga didapatkan larutan induk dengan konsentrasi 1000 mg/L. kemudian dibuat larutan uji dengan konsentrasi 100 mg/L. Masing-masing larutan uji dipipet sebanyak 0,5 mL dan dimasukkan kedalam labu ukur 10 mL kemudian ditambahkan 0,5 mL reagen Folin-Ciocalteu dan didiamkan selama 5 menit. Setelah itu ditambahkan 1 mL natrium karbonat 20% dan dilarutkan dengan aquades sampai tanda batas. Larutan didiamkan selama 2 jam dan absorbansi larutan diukur pada panjang gelombang 765 nm. Kandungan fenolik total pada masing-masing ekstrak dapat ditentukan menggunakan persamaan regresi larutan standar. Kandungan fenolik total dinyatakan dengan *Gallic Acid Equivalent* (GAE).

2.3.4 Penentuan Kandungan Fenolik Total Ekstrak Daun Salam dengan Metode Folin-Ciocalteu

a. Pembuatan Larutan DPPH

Sebanyak 4 mg DPPH ditimbang kemudian dilarutkan dengan metanol dalam labu ukur 100 mL sehingga diperoleh larutan DPPH 0,1 mM.

b. Pembuatan Larutan Ekstrak Daun salam

Larutan uji ekstrak metanol dan etil asetat dibuat dengan melarutkan 10 mg ekstrak di dalam labu ukur 100 mL sehingga didapatkan larutan induk 100 mg/L. sedangkan larutan uji ekstrak heksana dibuat dengan melarutkan 50 mg ekstrak di dalam labu ukur 50 mL sehingga didapatkan larutan induk 1000 mg/L. Selanjutnya, masing-masing larutan induk dibuat variasi konsentrasinya menggunakan metode pengenceran. Variasi konsentrasi untuk ekstrak metanol adalah 1,25; 2,5; 5; 10 dan 20 mg/L. Variasi konsentrasi untuk ekstrak etil asetat adalah 10, 20, 30, 40 dan 50 mg/L. Variasi konsentrasi untuk ekstrak heksana adalah 100, 200, 300, 400 dan 500 mg/L.

c. Pembuatan dan Pengujian Larutan Asam Askorbat Sebagai Kontrol Positif

Sebanyak 10 mg asam askorbat ditimbang kemudian dilarutkan dengan metanol dalam labu ukur 100 mL kemudian diperoleh konsentrasi larutan induk sebesar 100 mg/L. Variasi konsentrasi larutan induk larutan induk dibuat dengan menggunakan metode pengenceran. Variasi konsentrasi larutan asam askorbat adalah 0,78; 1,56; 3,125; 6,5; 10 dan 12,5 mg/L. Semua variasi larutan asam askorbat dipipet 2 mL dan ditambahkan dengan 3 mL larutan DPPH 0,1 mM ke dalam botol vial kemudian larutan didiamkan selama 30 menit. Larutan dimasukkan ke dalam kuvet dan diukur absorbansi menggunakan spektrofotometer Vis pada panjang gelombang 517 nm. Pengerjaan dilakukan di tempat yang gelap dan tidak terkena cahaya matahari.

d. Pengujian Aktivitas Antioksidan Larutan Uji

Larutan uji sebanyak 2 mL masing-masingnya dimasukkan ke dalam botol vial, ditambahkan dengan 3 mL DPPH 0,1 mM kemudian didiamkan selama 30 menit. Larutan uji dimasukkan ke dalam kuvet dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 517 nm. Berdasarkan absorbansi yang didapatkan, dihitung persentase inhibisi dengan rumus berikut:

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{A_{\text{blanko}} - A_{\text{sampel}}}{A_{\text{blanko}}} \times 100\%$$

Setelah nilai persentase inhibisi didapatkan dari perhitungan, selanjutnya nilai IC₅₀ dari masing-masing ekstrak dapat diketahui dengan menggunakan persamaan regresi dari data yang didapatkan.

3. Hasil dan Pembahasan

3.1. Persiapan Sampel dan Identifikasi Tumbuhan Salam

Sampel segar daun salam yang sudah dikering anginkan selama beberapa minggu pada udara terbuka tanpa terkena cahaya matahari langsung lalu dihaluskan sampai diperoleh bubuk kering sebanyak 1300 gram. Dengan pengeringan sampel daun salam menjadikan kadar air dalam simplisia akan berkurang sehingga dapat meminimalkan terjadinya reaksi enzimatik maupun hidrolisis senyawa dalam simplisia yang dapat mengakibatkan penurunan kualitas sampel, serta mempermudah proses ekstraksi dengan pelarut organik[9].

Berdasarkan hasil identifikasi tumbuhan di Herbarium Universitas Andalas (ANDA) Jurusan Biologi FMIPA Universitas Andalas melalui surat nomor 277/K-ID/ANDA/VIII/2020 diketahui sampel tumbuhan yang digunakan termasuk kedalam

famili Myrtaceae dengan spesies *Syzygium polyanthum* (Wight) Walp.

3.2. Hasil ekstraksi sampel daun salam

Sampel daun salam kering diekstrak dengan menggunakan metode maserasi tingkat. Jumlah sampel yang digunakan untuk ekstraksi sebanyak 1300 gram. Hasil ekstrak yang didapatkan dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil ekstraksi daun salam

Jenis Pelarut	Jumlah Ekstrak (gram)	Kadar Ekstrak (%)
Heksana	71,3619	5,49
Etil Asetat	50,3653	3,87
Metanol	85,0029	6,54

Berdasarkan Tabel 1, jenis pelarut yang digunakan berbeda-beda untuk setiap ekstraksi. Perbedaan jenis pelarut ini mempunyai pengaruh terhadap jumlah ekstrak yang dihasilkan. Ekstrak metanol diperoleh dengan jumlah tertinggi dikarenakan metanol merupakan pelarut universal yang memiliki gugus polar (-OH) dan gugus nonpolar (-CH₃) sehingga dapat menarik senyawa-senyawa yang bersifat polar dan nonpolar[10]. Sedangkan ekstrak yang didapatkan lebih rendah yaitu ekstrak etil asetat, ini dapat disebabkan karena pelarut etil asetat merupakan pelarut yang bersifat semipolar sehingga dapat menarik senyawa yang bersifat semipolar[11]. Dan untuk pelarut heksana hanya mampu menarik senyawa yang bersifat nonpolar saja. Suatu senyawa akan larut pada pelarut yang mempunyai kepolaran yang sama[12].

3.3 Hasil Pengujian Fitokimia Sampel Daun Salam

Masing-masing ekstrak daun salam dilakukan pengujian fitokimia untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder yang terdapat didalamnya. Hasil pengujian fitokimia dari ekstrak daun salam dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil pengujian fitokimia daun salam

Metabolit Sekunder	Hasil Ekstrak		
	Heksana	EtOAc	MeOH
Flavonoid	-	+	+
Fenolik	-	+	+
Saponin	-	-	-
Alkaloid	+	+	+
Triterpenoid	-	+	+
Steroid	+	+	+

Ket : + (ada metabolit sekunder)

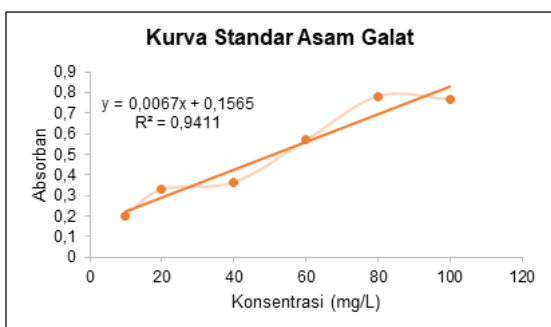
- (tidak ada metabolit sekunder)

Masing-masing ekstrak mempunyai perbedaan kepolaran pelarut pengeksraknya.

Hasil pengujian diperoleh bahwa masing-masing ekstrak memiliki kandungan metabolit sekunder yang berbeda. Hasil uji fitokimia diatas diperoleh ekstrak heksana mengandung senyawa metabolit sekunder alkaloid dan steroid yang bersifat nonpolar. Pada ekstrak etil asetat dan ekstrak metanol terkandung flavonoid, fenolik, alkaloid, triterpenoid, dan steroid. Pelarut etil asetat dan metanol mampu menarik senyawa-senyawa dengan rentang polaritas lebar dari polar hingga nonpolar[11].

3.4 Hasil Penentuan Kandungan Fenolik Total dengan Metode Folin-Ciocalteu

Kadar fenolik total ditetapkan menggunakan metode Spektrofotometri *visible* dengan pereaksi Folin Ciocalteu. Prinsip dari metode ini adalah terbentuknya senyawa kompleks berwarna biru dari fosfomolibdat / fosfotungstat yang direduksi senyawa fenolik dalam suasana basa yang dapat diukur secara spektrofotometri dan untuk pembandingan digunakan asam galat[13]. Berikut kurva regresi pengukuran absorban asam galat dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Kurva standar asam galat

Berdasarkan kurva diatas, persamaan regresi dari kurva standar asam galat yaitu $y = 0,0067x + 0,1565$ dengan koefisien determinasi $R^2 = 0,9411$ yang artinya 94,11% absorban mempengaruhi konsentrasi. Persamaan regresi ini digunakan untuk menghitung nilai kandungan fenolik total dari setiap ekstrak. Nilai kandungan fenolik diperoleh dengan cara mensubstitusi nilai absorban ke persamaan regresi standar asam galat yang dinyatakan dalam GAE (*Gallic Acid Equivalent*) yang dapat dilihat pada Tabel 3.

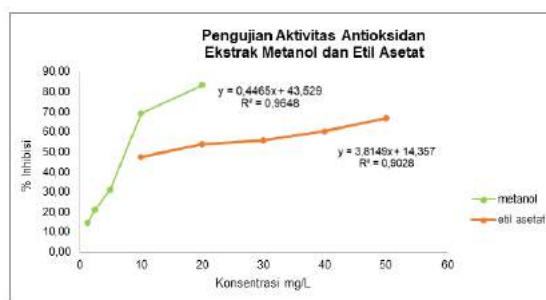
Tabel 3. Kadar fenolik total ekstrak daun salam

No	Ekstrak	Absorban	Fenolik total (mg GAE/10 mg ekstrak kering)
1	Heksana	0,167	0,1567
2	Etil Asetat	0,289	1,9776
3	Metanol	0,368	3,1657

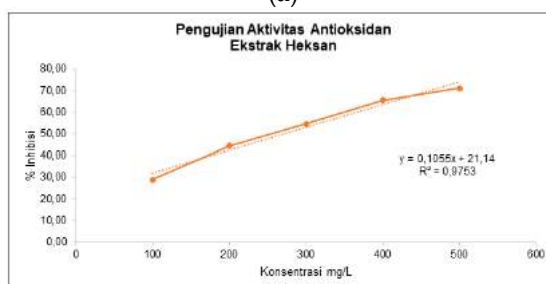
Pada Tabel 3 dapat dilihat bahwa kadar fenolik tertinggi diperoleh pada ekstrak metanol. Tingginya kandungan fenol yang diperoleh dikarenakan pengaruh pelarut yang digunakan untuk ekstraksi. Pelarut seperti metanol merupakan pelarut yang sangat luas digunakan dan efektif untuk ekstraksi komponen-komponen fenolik dari bahan alam, dan dibandingkan pelarut etil asetat dan heksana yang bersifat semipolar dan nonpolar[14].

3.5 Hasil Pengujian Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

Pengujian aktivitas antioksidan pada masing-masing ekstrak daun salam dilakukan dengan metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazin) menggunakan spektrofotometer *UV-Visible*. Ekstrak daun salam masing-masingnya dibuat menjadi beberapa variasi konsentrasi yang digunakan untuk menghitung nilai persentase penghambatan (inhibisi) radikal bebas DPPH. Berikut grafik hubungan antara konsentrasi dengan persentase penghambatan (inhibisi) dapat dilihat pada Gambar 2.



(a)



(b)

Gambar 2. Grafik hubungan konsentrasi dengan persen inhibisi ; (a) Ekstrak metanol dan Ekstrak etil Asetat; (b) Ekstrak heksana.

Berdasarkan grafik diatas menunjukkan bahwa terjadinya penghambatan radikal bebas pada DPPH oleh ekstrak yang mengandung antioksidan. Persen inhibisi (IC_{50}) berbanding lurus dengan konsentrasi. Nilai persen inhibisi (IC_{50}) untuk setiap ekstrak dapat dilihat pada Tabel 4.

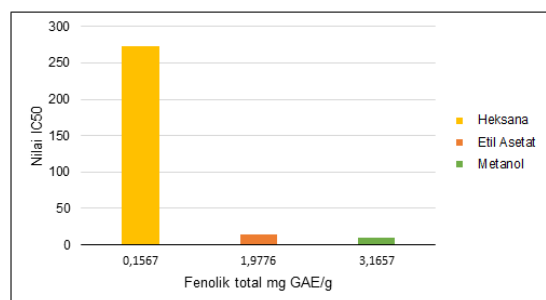
Tabel 4. Nilai Konsentrasi Penghambatan (IC_{50}) Ekstrak Daun Salam

Ekstrak	IC_{50} (mg/L)	Kategori Antioksidan
Metanol	9,34	Sangat Kuat
Etil Asetat	14,49	Sangat Kuat
Heksana	273,55	Lemah
Asam Askorbat	5,25	Sangat Kuat

Berdasarkan Tabel 4. bahwa ekstrak metanol, ekstrak etil asetat, dan ekstrak heksana memiliki nilai IC_{50} yang lebih tinggi dibandingkan dengan asam askorbat. Asam askorbat digunakan dalam metode DPPH sebagai pembanding (kontrol positif) karena berfungsi sebagai antioksidan sekunder dengan cara menangkap radikal bebas dan mencegah terjadinya reaksi berantai. Hal ini menandakan bahwa nilai IC_{50} asam askorbat mampu menangkal radikal bebas lebih baik dari masing-masing ekstrak lainnya. Suatu sampel dikatakan memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat apabila nilai $IC_{50} < 50$ $\mu\text{g/mL}$. Aktivitas antioksidan dari suatu senyawa dapat digolongkan berdasarkan nilai IC_{50} yang diperoleh. Semakin kecil nilai IC_{50} berarti semakin tinggi aktivitas antioksidannya. Secara spesifik suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat jika nilai IC_{50} kurang dari 50 $\mu\text{g/mL}$, kuat untuk IC_{50} bernilai 50-100 $\mu\text{g/mL}$, sedang jika bernilai 101-150 $\mu\text{g/mL}$ dan lemah jika nilai IC_{50} bernilai 151-200 $\mu\text{g/mL}$. Sampel yang memiliki nilai $IC_{50} > 200$ $\mu\text{g/mL}$ dianggap tidak bersifat antioksidan[15]. Berdasarkan pernyataan diatas dapat ditentukan bahwa ekstrak metanol dan etil asetat termasuk ekstrak yang memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat dan ekstrak heksana tidak memiliki aktivitas antioksidan.

3.6 Hubungan Aktivitas Antioksidan dengan Kandungan Fenolik Total

Hubungan aktivitas antioksidan dengan kandungan fenolik total dapat dilihat dari Gambar 3.



Gambar 3. Hubungan kadar fenolik total dengan aktivitas antioksidan

Berdasarkan grafik diatas, dapat diketahui bahwa semakin tinggi nilai kandungan fenolik total suatu zat maka semakin kecil nilai IC_{50} -nya sehingga aktivitas antioksidan semakin besar karena dengan konsentrasi kecil suatu zat sudah dapat menghambat radikal bebas. Nilai IC_{50} paling kecil terdapat pada ekstrak metanol yaitu 9,34 mg/L dan memiliki kandungan fenolik total sebanyak 3,1657 mg GAE/10 mg fraksi kering.

Aktivitas antioksidan disebabkan karena adanya senyawa-senyawa fenolik. Senyawa fenolik yang sangat aktif sebagai antioksidan alam dan paling banyak ditemukan dalam tanaman diantaranya adalah asam galat. Penelitian tentang hubungan antara struktur dan aktivitas antioksidan senyawa fenolik telah membuktikan bahwa aktivitas antioksidan senyawa ditentukan oleh adanya gugus hidroksil bebas dan terkonjugasi seperti pada asam galat[16].

4. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa masing masing ekstrak daun salam mengandung metabolit sekunder flavonoid, fenolik, alkaloid, triterpenoid, dan steroid. Pada ekstrak heksana terdapat alkaloid dan steroid, ekstrak etil asetat dan ekstrak metanol terkandung flavonoid, fenolik, alkaloid, triterpenoid, dan steroid. Aktivitas antioksidan paling kuat adalah ekstrak metanol (nilai IC_{50} sebesar 9,34 mg/L) dan etil asetat (nilai IC_{50} sebesar 14,49 mg/L), sedangkan ekstrak heksana (nilai IC_{50} sebesar 273,55 mg/L) memiliki aktivitas antioksidan lemah. Kandungan fenolik total tertinggi terdapat pada ekstrak metanol sebanyak 3,1657 mg GAE/10 mg sampel diikuti dengan ekstrak etil asetat sebanyak 1,9776 mg GAE/10 mg dan ekstrak heksana didapatkan terendah sebanyak 0,1567 mg GAE/10 mg sampel.

Referensi

1. Isnindar, W. S., Setyowati, E. P., 2011,

- Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Antioksidan Daun Kesemek (*Diospyros Kaki Thunb.*) dengan Metode DPPH (2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil), *Majalah Obat Tradisional*. 16 (3), 161-169.
2. Silalahi, M., 2017, *Syzygium polyanthum* (Wight) Walp) (Botani, Metabolit Sekunder Dan Pemanfaatan. *Jurnal D P Universitas Kristen Indonesia.*, 10 (1), 1-16.
 3. Susilowati & Wulandari, S., 2019, Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat dan Fraksi Air Ekstrak Etanol Daun Salam (*Syzygium polyanthum* (Wight.) Walp.) dengan Metode DPPH (1,1 Difenil- 2 pikrilhidrazil). *Indonesian Journal On Medical Science*. 6 (2), 39-44.
 4. Bahriul, P., R. N., Diah, A. W. M., 2014, Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Salam (*Syzygium Polyanthum*) dengan menggunakan 1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil. *Jurnal Akademika Kimia*. 3 (3), 143-149.
 5. Hidayati, M. D., Ersam, T., Shimizu, K., S, Fatmawati., 2017, Antioxidant Activity of *Syzygium polyanthum* Extracts. *Indones. J. Chem*. 17 (1), 49-53.
 6. Widyawati, T., Yusof, N.A., Asmawi, M.Z., Ahmad, M., 2015, Antihyperglycemic Effect of Methanol Extract of *Syzygium polyanthum* (Wight.) Leaf in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Nutrients*. (7), 7764-7780.
 7. Hasanah, N., 2015, Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Salam. *Jurnal Pena Medika*. 5 (1), 55 - 59
 8. Yuhernita & Juniarti., 2012, Analisis Senyawa Metabolit Sekunder Dari Ekstrak Metanol Daun Surian yang Berpotensi Sebagai Antioksidan. *Makara Sains*. 15 (1). 48-52.
 9. Kohar, I., Budiono, R., Palupi, S., Kartini., Kristiawan, M., 2010, Setyaningrum, I. Pengaruh Perlakuan Awal DIC pada pengeringan Daun Salam (*Eugenia polyanta* Wight, Walp) terhadap Efisiensi Ekstraksi dan Kecukupan Kandungan Senyawa Fenol Total (Phenol Content). *Jurnal Ilmiah Sains & Teknologi*. 4 (1), 18-28.
 10. Astarina, N. W. G., Astuti, K. W., Warditiani, N. K., 2013, Skrining Fitokimia Ekstrak Metanol Rimpang Bangle (*Zingiber Purpureum* Roxb.), *Jurnal Farmasi Udayana*.
 11. Putri, W.S., Warditiani, N.K., & Larasanty, L.P.F., 2013, Skrining Fitokimia Ekstrak Etil Asetat Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.), *Jurnal Farmasi Udayana*. 2 (4), 56-60.
 12. Savitri, I., Suhendra, L. & Wartini, N. M., 2018, Pengaruh Jenis Pelarut Pada Metode Maserasi terhadap Karakteristik Ekstrak *Sargassum polycystum*. *Jurnal Rekayasa Dan Manajemen Agroindustri*. 5 (3), 93-101.
 13. Alfian, R. & Susanti, H., 2012, Determination of Total Phenolic Content of Methanolic Extracts Red Rosell (*Hibiscus Sabdariffa* Linn) Calyxes in Variation of Growing Area by Spectrophotometry. *Jurnal Ilmiah Kefarmasian*. 2 (1), 73-80.
 14. Dungira, S.G., Katjaa, D. G., Kamua, V. S., 2012, Aktivitas Antioksidan Ekstrak Fenolik dari Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.). *Jurnal Mipa Unsrat Online*. 1 (1), 11-15
 15. Afriani, I. N., D. L., A. L., 2014, Uji Aktivitas Antioksidan Daging Buah Asam Paya (*Eleiodoxa Conferta* Burret) dengan Metode DPPH dan Tiosianat. *JKK*. 3 (1), 5-21.
 16. Maesaroh, K., K. D., Anshori, J. A., 2018, Perbandingan Metode Uji Aktivitas Antioksidan DPPH, FRAP dan FIC Terhadap Asam Askorbat, Asam Galat dan Kuersetin. *Jurnal Chimica et Natura Acta*. 6 (2), 93-100.

PENENTUAN KANDUNGAN FENOLIK TOTAL, UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN SITOTOKSIK EKSTRAK HEKSANA DAN ETIL ASETAT BATANG SEMU TUMBUHAN BUNGA BANGKAI (*Amorphophallus paeoniifolius* (Dennst.) Nicolson)

Bustanul Arifin*, Suryati, Sandri Widia Oksadela

Laboratorium Kimia Organik Bahan Alam, Jurusan Kimia FMIPA Universitas Andalas
Jurusan Kimia FMIPA Unand, Kampus Limau Manis, 25163
*E-mail: sandriwidia@gmail.com

Abstrak: *Amorphophallus paeoniifolius* (Dennst.) Nicolson atau yang dikenal dengan bunga bangkai termasuk ke dalam keluarga Araceae yang biasanya digunakan sebagai pangan olahan, pangan sayur serta dapat pula dimanfaatkan sebagai bahan baku pembuatan obat. Dalam penelitian sebelumnya dikatakan bunga bangkai merupakan tanaman herbal yang bersifat anti-inflamasi, antiracun, mencegah pendarahan, antibakteri, antioksidan, antitumor, antidiare, dan mengobati luka. Ekstraksi batang semu bunga bangkai dilakukan dengan metoda maserasi dari pelarut yang memiliki tingkat kepolaran rendah hingga pelarut yang memiliki tingkat kepolaran tinggi. Batang semu bunga bangkai pada ekstrak heksana mengandung senyawa steroid, fenolik, dan alkaloid serta pada ekstrak etil asetat mengandung senyawa triterpenoid, fenolik dan alkaloid. Ekstrak heksana dan etil asetat batang semu bunga bangkai dilakukan penentuan kandungan fenolik total menggunakan metoda *Follin-Ciocalteu*, aktivitas antioksidan menggunakan metoda 1,1-difenil-2-pikrihidrazil (DPPH) dan sitotoksik menggunakan metoda *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Pada hasil penelitian diketahui bahwa kandungan fenolik total ekstrak heksana sebesar 51 mg GAE/g dan ekstrak etil asetat sebesar 27,91 mg GAE/g. Aktivitas antioksidan ekstrak heksana dan ekstrak etil asetat bersifat tidak antioksidan dengan nilai IC_{50} 201,011 mg/L dan 463,396 mg/L. Pada hasil uji aktivitas sitotoksik ekstrak heksana bersifat toksik dengan nilai LC_{50} 50,582 mg/L dan ekstrak etil asetat bersifat tidak toksik dengan nilai LC_{50} 1541,700 mg/L.

Kata Kunci: Batang semu bunga bangkai, *Amorphophallus paeoniifolius* (Dennst.) Nicolson, kandungan fenolik total, antioksidan, sitotoksik.

1. Pendahuluan

Indonesia merupakan salah satu negara "megadiversity" yang kaya akan keanekaragaman hayatinya. Ditemukan sekitar 250.000 jenis tumbuhan tinggi dan lebih dari 60% dinyatakan kedalam tumbuhan tropika. Diketahui kurang lebih sekitar 30.000 tumbuhan hidup di dalam hutan hujan tropika dan 1.260 spesies diantaranya terbukti efektif dijadikan sebagai tumbuhan obat. Namun baru sebagian spesies saja yang dibudidayakan secara intensif[1].

Keanekaragaman hayati tersebar luas keseluruh pulau besar yang terdapat di Indonesia seperti Kalimantan, Sumatera, Papua, dan Jawa. Keanekaragaman hayati tersebut

memiliki banyak biomolekul senyawa-senyawa organik yang jumlahnya tidak terhitung. Keanekaragaman hayati yang ada di Indonesia salah satunya adalah tumbuhan *Amorphophallus*. *Amorphophallus* adalah genus penting dalam keluarga Araceae karena memiliki nilai ekonomi yang tinggi untuk berbagai keperluan, selain itu keanekaragaman tumbuhan ini sangat besar, baik dari segi ukuran maupun bentuk. Genus ini termasuk dalam jenis tumbuhan yang jarang diketahui atau bahkan memiliki kemungkinan menjadi langka. Beberapa spesies dari genus *Amorphophallus* yaitu *Amorphophallus decus-silvae*, *A. discophorus*, *A. annulifer*, *A. sagitarius*, *A. spectabilis*, *A. campanulatus* dan *A. paeoniifolius*[2,3].

Salah satu spesies *Amorphophallus* yang banyak tersebar di Indonesia adalah *Amorphophallus paeoniifolius* (Dennst.) Nicolson. Tumbuhan ini merupakan salah satu kelompok tumbuhan dari Ordo Alismatales, Famili Araceae, Sub Famili Aroid, Genus *Amorphophallus*. Di Indonesia *Amorphophallus paeoniifolius* dikenal dengan nama umum bunga bangkai. Bunga bangkai biasanya tumbuh liar di daerah yang tidak terkena sinar matahari atau di daerah yang lembab. Tumbuhan ini banyak ditemukan di hutan dan termasuk salah satu jenis umbi-umbian yang dapat hidup tanpa pemeliharaan serta perawatan secara kontinyu[4,5].

Diantara tumbuhan famili araceae, bunga bangkai merupakan makanan pokok yang penting di Indonesia khususnya selama masa Belanda hingga tahun 1950-an. Pada saat ini, bunga bangkai dikenal sebagai pangan olahan serta pangan sayur, bunga bangkai dapat pula dimanfaatkan sebagai bahan baku pembuatan obat, dan pakan ternak. Tanaman bunga bangkai juga digunakan sebagai sumber makanan tradisional seperti di Malaysia, Filipina, Bangladesh, dan India. Di India, tumbuhan ini telah mendapatkan status tumbuhan komersial karena kemampuan produksinya yang tinggi dan memiliki keuntungan ekonomi yang besar. Tumbuhan ini mempunyai sumber protein yang baik sehingga sangat populer dibuat sebagai sayuran pada beberapa makanan di India[5-7].

Dalam penelitian sebelumnya dikatakan bunga bangkai merupakan tumbuhan herbal yang bersifat anti-inflamasi, antiracun, mencegah pendarahan, antibakteri, antioksidan, antitumor, antidiare dan mengobati luka. Umbi bunga bangkai mengandung zat kimia seperti flavonoid yang termasuk senyawa antioksidan, sedangkan pada daun dan batang bunga bangkai mengandung saponin dan polifenol[8].

Berdasarkan studi pustaka, penentuan kandungan fenolik total, uji aktivitas antioksidan dan sitotoksik telah dilakukan pada umbi tumbuhan bunga bangkai. Namun, belum banyak yang melaporkan tentang bioaktivitas tersebut pada batang semunya. Maka pada

penelitian kali ini akan dilakukan ekstraksi dan uji fitokimia serta penentuan kandungan fenolik total, uji aktivitas antioksidan dan sitotoksik terhadap ekstrak heksana dan ekstrak etil asetat batang semu tumbuhan bunga bangkai untuk memperoleh informasi kandungan fenolik total, kemampuan antioksidan dan sifat sitotoksiknya[7].

2. Metodologi Penelitian

2.1 Alat

Alat yang digunakan adalah botol reagen gelap, plat KLT, pipa kapiler, kertas saring, neraca analitik, grinder, rotary evaporator, lampu UV, spektrofotometer UV-VIS, aluminium foil, pipet mikro dan beberapa peralatan kaca.

2.2 Bahan

Pelarut yang digunakan adalah heksana, diklorometana, etil asetat, dan butanol yang telah didistilasi. Identifikasi metabolit sekunder digunakan reagen seperti pereaksi Mayer (raksa(II) klorida, kalium iodida) untuk identifikasi alkaloid, pereaksi Liebermann-Burchard (anhidrida setat dan asam sulfat pekat) untuk identifikasi triterpenoid dan steroid, Shinoda test (bubuk magnesium dan asam klorida pekat) untuk identifikasi flavonoid, besi (III) klorida untuk identifikasi fenolik, plat KLT dan natrium hidroksida untuk identifikasi kumarin serta asam klorida untuk identifikasi saponin. Larva udang *Artemia salina*, DMSO dan air laut untuk uji aktivitas sitotoksik. Asam galat dan reagen Follin-Ciocalteu untuk penentuan kandungan fenolik total. Asam askorbat dan DPPH untuk uji aktivitas antioksidan.

2.3 Prosedur Penelitian

2.3.1 Preparasi dan Identifikasi Sampel

Tumbuhan bunga bangkai diambil di Kota Padang Prov. Sumatera Barat. Sampel segar dirajang halus untuk mempercepat proses pengeringan, proses pengeringan dilakukan pada ruangan dengan sirkulasi udara yang baik dan tidak terkena cahaya matahari secara langsung. Sampel dilakukan identifikasi di Herbarium Universitas Andalas.

2.3.2 Ekstraksi Batang Semu Bunga Bangkai

Sampel bubuk batang semu bunga bangkai dimaserasi (direndam) dengan pelarut heksana selama 5 hari dan sesekali diaduk. Hasil maserasi disaring dan diperoleh filtrat yang akan dipekatkan dengan *rotary evaporator* sehingga diperoleh ekstrak pekat dari pelarut heksana. Maserasi dilakukan dengan pelarut yang sama sampai hasil ekstrak terakhir tidak berwarna. Ekstrak pekat yang diperoleh dikeringkan dalam desikator untuk menguapkan sisa-sisa pelarut sehingga dapat diketahui rendemen ekstrak yang didapatkan. Perlakuan yang sama dilakukan untuk pelarut diklorometana, etil asetat, dan butanol.

2.3.3 Uji Fitokimia Batang Semu Bunga Bangkai

Ekstrak batang semu fraksi heksan dan etil asetat masing-masingnya ditambahkan 2 mL kloroform dan 2 mL akuades dan diaduk lalu didiamkan sejenak sampai terbentuk dua lapisan yaitu lapisan kloroform dan lapisan akuades. Pemeriksaan flavonoid, saponin, dan fenolik digunakan lapisan akuades (atas). Pemeriksaan senyawa triterpenoid dan steroid digunakan lapisan kloroform (bawah).

a. Pemeriksaan Flavonoid

Dimasukkan lapisan akuades sebanyak 5 tetes ke tabung reaksi lalu asam klorida pekat dan beberapa butir serbuk magnesium ditambahkan. Terbentuk warna merah-jingga menandakan positif flavonoid.

b. Pemeriksaan Fenolik

Sebanyak 5 tetes lapisan akuades dimasukkan ke dalam tabung reaksi lalu larutan besi (III) klorida 5% ditambahkan. Terbentuk warna biru atau ungu hitam menandakan positif fenolik.

c. Pemeriksaan Saponin

Lapisan akuades sebanyak 10 tetes dimasukkan ke tabung reaksi lalu dikocok, jika terbentuk busa yang tidak hilang setelah beberapa tetes asam klorida pekat ditambahkan menunjukkan adanya saponin.

d. Pemeriksaan triterpenoid dan steroid

Diteteskan lapisan kloroform pada dua lubang plat tetes. Plat pertama ditambahkan pereaksi *Liebermann-Burchard* dan plat kedua digunakan sebagai pembanding. Adanya cincin merah atau merah keunguan menunjukkan positif

triterpenoid sedangkan cincin warna hijau atau hijau biru menunjukkan positif steroid.

e. Pemeriksaan Alkaloid

Dimasukkan sebanyak 2 mL ekstrak bunga bangkai ke tabung reaksi, 2 mL kloroform dan 2 mL amonia 0,05 M dalam kloroform ditambahkan, kemudian ditambahkan asam sulfat 2 N dan diaduk hingga terbentuk dua lapisan. Diambil lapisan asam dan pereaksi mayer ditambahkan. Apabila timbul endapan berwarna putih maka sampel mengandung alkaloid.

f. Pemeriksaan Kumarin

Hasil ekstrak batang semu dari heksan dan etil asetat ditotolkan menggunakan pipa kapiler pada garis awal plat KLT dan dibiarkan kering. Setelah itu, dielusi dengan eluen didalam chamber yang berisi 8 mL heksana dicampurkan dengan 2 mL etil asetat. Noda dimonitor dibawah lampu UV (365 nm). Disemprotkan NaOH 1%, jika terbentuk fluoresensi biru terang setelah menunjukkan positif kumarin.

2.3.4 Penentuan Kandungan Total Fenolik dengan Metoda Follin-Ciocalteu

a. Pembuatan Larutan Standar Asam Galat

10 mg asam galat yang dilarutkan dalam labu ukur 50 mL menggunakan pelarut metanol dan diperoleh konsentrasi 200 mg/L. Larutan standar dibuat dengan variasi konsentrasi 160; 140; 120; 100; 80; 60 mg/L. Diambil 0,5 mL dari masing-masing konsentrasi dan dimasukkan ke labu ukur 10 mL lalu 0,5 mL reagen Follin-Ciocalteu ditambahkan. Selama 5 menit campuran tersebut didiamkan kemudian ditambahkan 1 mL larutan natrium karbonat 20% dan diencerkan dengan akuades sampai tanda batas. Selama 2 jam larutan tersebut didiamkan dan nilai absorban diukur pada panjang gelombang 765 nm. Kurva kalibrasi dibuat berdasarkan nilai absorban yang didapatkan.

b. Pembuatan Larutan Ekstrak Bunga Bangkai

Sebanyak 20 mg ekstrak heksana ditimbang dan dilarutkan dalam labu ukur 10 mL dengan menggunakan metanol sehingga didapatkan konsentrasi sebesar 2000 mg/L. Sedangkan

ekstrak etil asetat ditimbang sebanyak 30 mg dilarutkan dalam labu ukur 10 mL sehingga didapatkan konsentrasi sebesar 3000 mg/L. Masing-masing dari larutan yang telah dibuat diambil sebanyak 0,5 mL dan dimasukkan ke labu ukur 10 mL dan ditambahkan 0,5 mL reagen Follin-Ciocalteu dan didiamkan selama 5 menit. Kemudian ditambahkan larutan natrium karbonat 20% sebanyak 1 mL dan diencerkan kembali dengan akuades sampai tanda batas. Larutan tersebut didiamkan selama 2 jam dan absorbansi diukur pada panjang gelombang 765 nm. Kandungan fenolik total dinyatakan dalam Galic Acid Equivalent (GAE).

2.3.5 Uji Aktivitas Antioksidan dengan Menggunakan Metoda DPPH

a. Pembuatan Larutan DPPH

Ditimbang sebanyak 4 mg DPPH dan dilarutkan pada labu ukur 100 mL dengan menggunakan metanol sampai tanda batas sehingga diperoleh larutan DPPH 0,1 mM

b. Pembuatan Larutan Ekstrak Bunga Bangkai

Larutan uji dibuat dari masing-masing ekstrak dengan melarutkan 100 mg sampel pada labu ukur 100 mL dengan metanol, sehingga didapatkan konsentrasi larutan induk yaitu 1000 mg/L. Larutan induk dibuat beberapa variasi konsentrasi yaitu 200; 100; 50; 25; 12,5; dan 6,25 mg/L untuk ekstrak heksan dan 800; 400; 200; 100; 50; dan 25 mg/L untuk ekstrak etil asetat. Asam askorbat dibuat variasi konsentrasi 6,25; 3,125; 1,5625; 0,7813; 0,3906 mg/L yang digunakan sebagai larutan pembanding.

c. Pengujian Aktivitas Antioksidan

Sebanyak 2 mL larutan uji diambil dari masing-masing konsentrasi kemudian 3 mL larutan DPPH ditambahkan dan didiamkan selama 30 menit. 2 mL metanol dan 3 mL larutan DPPH dibuat untuk dijadikan kontrol negatif. Pada panjang gelombang 517, absorbansi dari masing-masing konsentrasi larutan uji dan kontrol diukur. Dari hasil absorbansi yang diperoleh, presentase inhibisi dihitung dengan rumus berikut:

$$\text{Persen inhibisi} = \frac{A_{\text{kontrol}} - A_{\text{sampel}}}{A_{\text{kontrol}}} \times 100$$

Keterangan: A = Absorbansi

Nilai presentase inhibisi didapatkan dari perhitungan, sehingga bisa ditentukan nilai IC₅₀ dengan menggunakan persamaan regresi.

2.3.6 Uji Aktivitas Sitotoksik dengan Metoda BSLT

a. Pembenihan Larva Udang

Larva udang *Artemia salina* Leach adalah hewan uji yang digunakan pada metode ini. Air laut yang bersih dan jernih dimasukkan ke dalam container gelas kecil yang terdiri dari dua sisi yaitu gelap dan terang serta dilengkapi dengan lampu, penutup dan aerator. Dimasukkan telur udang pada sisi gelap container dan selama 48 jam didiamkan. Telur akan menetas menjadi larva (naupili) setelah 48 jam dan kemudian akan bergerak ke sisi terang container. Larva tersebut digunakan sebagai hewan percobaan pada uji sitotoksik pada penelitian ini.

b. Persiapan Larutan Uji

Ditimbang 50 mg ekstrak heksan dan dilarutkan pada labu ukur 50 mL hingga tanda batas dan didapatkan larutan induk dengan konsentrasi 1000 mg/L. Dibuat beberapa variasi konsentrasi dari larutan induk melalui pengenceran bertingkat yaitu 250; 125; 62,5; 31,25; 15,625 mg/L. Sedangkan untuk ekstrak etil asetat, ditimbang sebanyak 100 mg ekstrak dan dilarutkan pada labu ukur 50 mL hingga tanda batas dan didapatkan larutan induk dengan konsentrasi 2000 mg/L. Dibuat beberapa variasi konsentrasi melalui pengenceran bertingkat yaitu 1800; 1600; 1400; 1200; 1000 mg/L. Larutan kontrol dibuat dengan melarutkan 50 µL DMSO dan ditambahkan dengan air laut hingga 5 mL.

c. Pengujian Sitotoksik

Diambil sebanyak 5 mL larutan uji kemudian pelarutnya diuapkan dan sebanyak 50 µL DMSO ditambahkan sampai semua ekstrak larut. Kemudian 2 mL air laut ditambahkan ke dalam masing-masing larutan uji. Sebanyak 10 ekor larva udang dimasukkan ke dalam setiap

larutan uji dan cukupkan sampel sampai volumenya 5 mL menggunakan air laut. Larva udang didalam larutan uji diamati dengan cara menghitung jumlah larva yang mati setelah 24 jam. Hasil pengamatan diolah untuk mendapatkan nilai LC₅₀.

3. Hasil dan Diskusi

3.1 Preparasi dan Identifikasi Sampel Batang Semu Bunga Bangkai

Tumbuhan yang diidentifikasi di Herbarium Universitas Andalas (ANDA) melalui surat Nomor 024/K-IDE/ANDA/I/2020 diketahui bahwa tumbuhan yang digunakan termasuk kedalam family Araceae, spesies *Amorphophallus paeoniifolius* (Desnnt.) Nicolson.

3.2 Ekstraksi Batang Semu Bunga Bangkai

Pada penelitian ini sebanyak 1,39 kg batang semu bunga bangkai dilakukan ekstraksi dengan metode maserasi (perendaman) bertingkat menggunakan empat pelarut dengan tingkat kepolaran yang berbeda yaitu heksan, diklorometana, etil asetat dan butanol. Hasil ekstraksi dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Jumlah masing-masing ekstrak

Pelarut	Jumlah Ekstrak (gram)	Kadar (%)
Heksana	14,17	1,019
DCM	6,86	0,494
Etil asetat	6,64	0,478
Butanol	4,05	0,291

Dari Tabel 1 dapat diketahui bahwa ekstrak heksana memiliki kadar yang paling banyak dan ekstrak butanol memiliki kadar yang paling sedikit, hal itu membuktikan bahwa batang semu tumbuhan bunga bangkai ini lebih banyak mengandung senyawa yang bersifat nonpolar dibandingkan dengan senyawa yang sifatnya polar.

3.3 Uji Fitokimia Batang Semu Bunga Bangkai

Tabel 2. Hasil uji fitokimia batang semu bunga bangkai

No	Kandungan Senyawa	Ekstrak Heksana	Ekstrak Etil Asetat
1	Flavonoid	-	-
2	Fenolik	+	+
3	Saponin	-	-
4	Triterpenoid	-	+
5	Steroid	+	-
6	Alkaloid	+	+
7	Kumarin	-	-

Keterangan :

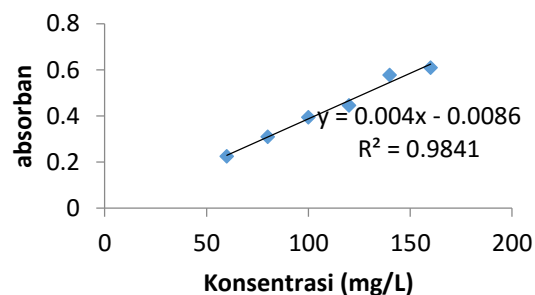
+ : terdapat pada sampel

- : tidak terdapat pada sampel

Berdasarkan Tabel 2 diatas dapat diketahui bahwa ekstrak heksana batang semu bunga bangkai mengandung fenolik, alkaloid dan steroid, sedangkan ekstrak etil asetat mengandung fenolik, triterpenoid dan alkaloid. Deddy Firman dkk menyatakan bahwa ekstrak etil asetat umbi bunga bangkai mengandung metabolit sekunder alkaloid[8].

3.4 Penentuan Kandungan Total Fenolik dengan Metoda Follin-Ciocalteu.

Kandungan fenolik total ditentukan dengan persamaan regresi asam galat dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Grafik hubungan konsentrasi dengan absorban larutan asam galat.

Pada Gambar 1 dapat dilihat persamaan regresi linear yang diperoleh adalah $y = 0,004x - 0,0086$ dengan koefisien determinasi $R^2 = 0,984$, artinya

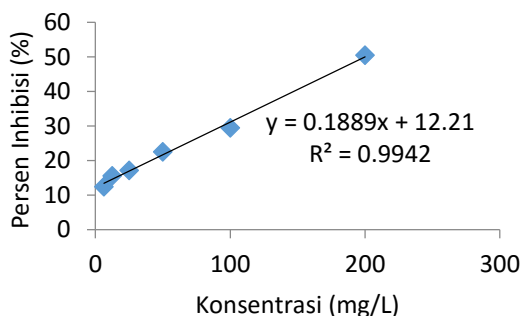
98,4% absorban dipengaruhi oleh konsentrasi ekstrak. Grafik ini memperlihatkan adanya hubungan berbanding lurus antara konsentrasi asam galat dengan absorban yang dapat dilihat dari nilai R yaitu $\geq 0,9$.

Tabel 3. Kadar Fenolik Ekstrak Batang Semu Bunga Bangkai

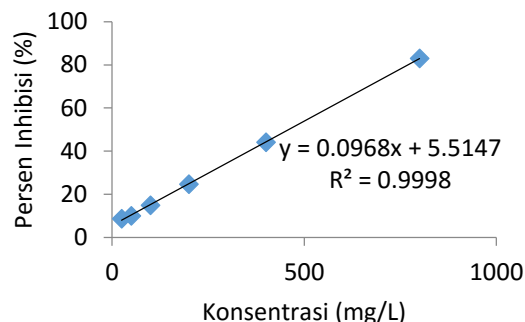
Ekstrak	Konsentrasi (mg/L)	Absorban	mg GAE/g ekstrak
Heksana	2000	0,416	51
Etil asetat	3000	0,343	27,91

Berdasarkan Tabel 3 dapat dilihat bahwa ekstrak heksana mengandung total fenolik sebesar 51 mg GAE/g dan ekstrak etil asetat mengandung total fenolik sebesar 27,91 mg GAE/g. Pada literatur senyawa fenolik bersifat polar di alam dan oleh karena itu senyawa fenolik biasanya memiliki kelarutan yang tinggi dalam pelarut polar. Namun, pada Tabel 3 dapat dilihat bahwa kandungan fenolik total ekstrak etil asetat lebih kecil dibandingkan dengan ekstrak heksana. Hal itu dikarenakan sebelumnya dilakukan ekstraksi bertingkat yang mengakibatkan kandungan fenolik sudah terekstrak terlebih dahulu oleh pelarut heksana dan diklorometana.

3.5 Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metoda DPPH
 Hasil antioksidan diukur dengan menggunakan alat Spektrofotometri UV-VIS pada panjang gelombang 517 nm didapatkan persamaan regresi pada Gambar 2 dan 3.



Gambar 2. Grafik Ekstrak Heksana



Gambar 3. Grafik ekstrak etil asetat

dapat dilihat semakin tinggi konsentrasi maka persen inhibisi akan semakin tinggi pula, ini menyatakan bahwa semakin banyak senyawa penangkal radikal bebas yang terdapat didalam larutan jika konsentrasinya tinggi. Didapatkan persamaan regresi linier untuk heksana $y = 0,188x + 12,21$ dengan koefisien determinasi $R^2 = 0,994$, artinya 99,4% dari persen inhibisi dipengaruhi oleh konsentrasi ekstrak. Untuk etil asetat didapatkan persamaan regresi linier $y = 0,096x + 5,514$ dengan koefisien determinasi $R^2 = 0,999$, artinya 99,9% dari persen inhibisi dipengaruhi oleh ekstrak. Dari nilai yang didapatkan dapat dilakukan perhitungan untuk nilai IC_{50} .

Tabel 4. Nilai IC_{50} ekstrak batang semu Bunga Bangkai

Ekstrak	IC_{50} (mg/L)
Heksana	201,011
Etil asetat	463,396

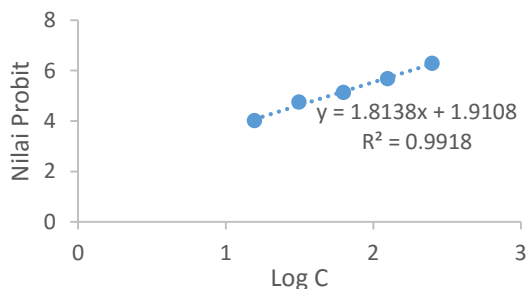
Berdasarkan literatur, apabila suatu senyawa memiliki nilai IC_{50} kurang dari 50 mg/L dikatakan memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat, apabila IC_{50} antara 50-100 mg/L dikatakan kuat, lemah apabila 150-200 mg/L dan lebih besar dari 200 mg/L dikatakan tidak aktif antioksidan[27]. Ekstrak heksana dan ekstrak etil asetat dapat dikatakan tidak aktif terhadap antioksidan karena memiliki nilai IC_{50} 201,011 mg/L untuk ekstrak heksana dan 463,396 mg/L untuk ekstrak etil asetat. Pada penelitian sebelumnya, yang dilakukan oleh Deddy Firman, dkk nilai IC_{50} ekstrak etil asetat umbi bunga bangkai yang didapatkan tidak jauh berbeda dengan ekstrak etil asetat batang semunya yaitu 458,102 mg/L[27].

3.6 Hubungan Kandungan Fenolik Total terhadap Aktivitas Antioksidan

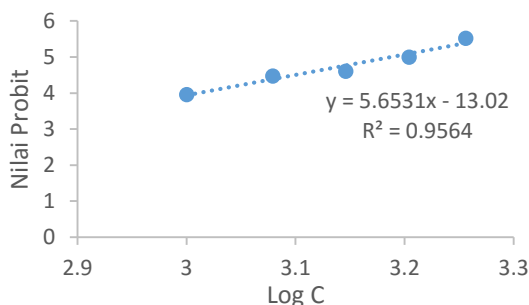
Berdasarkan hasil fenolik total dan antioksidan dapat diketahui semakin tinggi kandungan fenolik total suatu sampel maka nilai IC₅₀ akan semakin kecil. Jika nilai IC₅₀ suatu ekstrak kecil maka menandakan aktivitas antioksidannya akan kuat. Pada ekstrak heksana memiliki kandungan fenolik total lebih banyak dibandingkan ekstrak etil asetat sehingga dapat dikatakan bahwa aktivitas antioksidan ekstrak heksana lebih baik dibandingkan dengan ekstrak etil asetat yang ditandai dengan nilai IC₅₀ ekstrak heksana lebih kecil dibandingkan dengan ekstrak etil asetat.

3.7 Uji Aktivitas Sitotoksik dengan Metoda BSLT

Hasil uji sitotoksik dilihat dari persen kematian dari larva udang *Artemia salina* yang dikonversikan ke dalam nilai probit dan didapatkan persamaan regresi pada Gambar 4 dan 5.



Gambar 4. Grafik nilai probit dengan log konsentrasi ekstrak heksana



Gambar 5. Grafik nilai probit dengan log konsentrasi ekstrak etil asetat

Berdasarkan Gambar 4 dan 5 diperoleh nilai R²= 0,991 untuk ekstrak heksana yang menunjukkan 99,1% nilai probit dipengaruhi oleh log konsentrasi. Sedangkan untuk ekstrak etil asetat diperoleh nilai R²= 0,956, yang menunjukkan

95,6% nilai probit dipengaruhi oleh log konsentrasi. Dari nilai regresi yang didapatkan antara log konsentrasi dengan nilai probit menunjukkan adanya hubungan korelasi yang erat. Nilai LC₅₀ batang semu bunga bangkai dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Nilai LC₅₀ ekstrak batang semu bunga bangkai

No.	Ekstrak	LC ₅₀ (mg/L)
1	Heksana	50,582
2	Etil Asetat	1541,700

Berdasarkan Tabel 5 nilai LC₅₀ ekstrak heksana lebih rendah dibandingkan dengan nilai LC₅₀ ekstrak etil asetat. Berdasarkan literatur suatu senyawa akan bersifat sangat toksik jika nilai LC₅₀ kecil dari 30 mg/L, tidak toksik jika nilai LC₅₀ besar dari 1000 mg/L dan toksik jika nilai LC₅₀ berada pada kisaran 31-1000 mg/L [28]. Dari hasil penelitian yang telah dilakukan ekstrak heksana dapat dikatakan toksik karena memiliki nilai LC₅₀ diantara 31-1000 mg/L yaitu sebesar 50,582 mg/L. Sedangkan ekstrak etil asetat dinyatakan tidak toksik karena memiliki nilai LC₅₀ besar dari 1000 mg/L yaitu sebesar 1541,700 mg/L. Ekstrak heksana bersifat toksik salah satunya disebabkan karena ekstrak heksana mengandung senyawa alkaloid yang mana menurut Vrana, dkk senyawa golongan alkaloid merupakan senyawa yang berpotensi terhadap aktivitas sitotoksik[29

].

2. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan terhadap batang semu bunga bangkai dapat disimpulkan bahwa ekstrak heksana mengandung metabolit sekunder yaitu fenolik, steroid dan alkaloid serta pada ekstrak etil asetat mengandung fenolik, triterpenoid dan alkaloid. Kandungan fenolik total terbanyak terdapat pada ekstrak heksana (51 mg GAE/g). Aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode DPPH menunjukkan bahwa ekstrak heksana dan ekstrak etil asetat bersifat tidak aktif terhadap antioksidan dengan nilai IC₅₀ 197,716 mg/L untuk ekstrak heksana dan 460,381 mg/L

untuk ekstrak etil asetat. Dari hasil uji sitotoksik menunjukkan bahwa ekstrak heksana bersifat toksik (LC_{50} 50, 582 mg/L) dan ekstrak etil asetat bersifat tidak toksik (LC_{50} 1541,700 mg/L).

Referensi

1. Syamsul A.A., E.H. Hakim, L.D. Juliawati, L. Makmur, S. Kusuma, Y.M. Syah. 1995. Eksplorasi kimia tumbuhan hutan tropis Indonesia : beberapa data mikromolekuler tumbuhan Lauraceae sebagai komplemen etnobotani. *Prosiding Seminar Etnobotani Tanggal 24-25 Januari 1995*. Fakultas Biologi UGM. Yogyakarta. 8 -12.
2. Dalimarta, S. 2003. *Atlas tumbuhan obat Indonesia*. jilid 2. Trubus Agriwidya
3. Frank, A.B., S. Bittman, A. Douglas, Johnson, A.B. Frank. 1996. Water Relations of Cool Season Grasses. *Agronomy monograph* no 34.
4. Syamsiah. 2011. *Pengaruh Cara Pengolahan Umbi Tire (Amorphophallus sp.) terhadap kadar kalsium oksalat*. Bionature. Universitas Negeri Makassar. 63-69
5. Ngatidjan. 1997. Metode Laboratorium dalam Toksikologi. Pusat Antar Universitas Bioteknologi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
6. Arissoesilaningih. 2009. Bunga bangkai (*Amorphophallus campanulatus* Bl) Jenis, Syarat Tumbuh, Budidaya dan Standar Muru Ekspornya. Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat (BALITTRO). Bogor
7. Singh, Anuradha. 2014. A Review on Multiple Potential of Aroid: *Amorphophallus peoniifolius*. *Jurnal Pharm. India*. 55-60
8. Firman, Deddy. 2016. *Aktivitas Antioksidan Ekstrak Umbi Bunga bangkai (Amorphophallus peoniifolius) dari Berbagai Tingkat Polaritas Pelarut*. Kovalen. Universitas Tadulako. 61-69
9. Jintan. 2015. Studi Beberapa Aspek Botani *Amorphophallus peoniifolius* Dennst. Nicolson (Araceae) di Lembah Palu. *Jurnal of Natural Science*. Universitas Tadulako. 17-31
10. Global Biodiversity Information Facility Backbone Taxonomy: *Amorphophallus peoniifolius* (Dennst) Nicholson. <https://www.gbif.org/species/2871533>.
11. Sugiyama, N. and E. Santosa. 2008. Edible *Amorphophallus* in Indonesia- Potential crops in Agroforestry. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. 125 p.
12. Kasno, A., Trustinah, M. Anwari, dan B Swarsono. 2007. Prospek bunga bangkai sebagai bahan pangan saat paceklik. Dalam *Inovasi Teknologi Kacang-kacangan dan Umbi-umbian Mendukung Kemandirian Pangan dan Kecukupan Energi*. Pusat Penelitian dan Pengembangan Tanaman Pangan. Hal 257- 262
13. Misra, R.S. and S. Sriram. Medicinal value and Export Potential of Tropical Tuber Crops. In: *Recent Progress in Medicinal Plants, Crop Improvement and Commercialisation*, 5, 2001, 317-325.
14. Rastogi, R. P.; Mehrotra, B. N. *Compendium of Indian medicinal plants*. Lucknow: Central Drug Research Institute, 1995, 40-41.
15. Segal dan Bavin. 1994. *Pathogenic Yeast and Yeast Infection. Library of Congress Cataloging in Publication Data*, Hal 12. Tokyo: CRC Press
16. Alfian, Riza., Susanti, Hari, 2012, *Penetapan Kadar Total fenolik Ekstrak Metanol Kelopak Bunga Rosella Merah (Hibiscus sabdariffa Linn) dengan Variasi Tempat Tumbuh secara Spektrofotometri*. *Jurnal Ilmiah Kefarmasian*, 2(1), 73-80 (fenolik)
17. Paul, M, *Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach*, Wiley, New York, 2002
18. Retnaningsih, Ch., dkk: *Isolasi Senyawa Antioksidan dan Antidiabetes dari Biji Kacang Koro (Mucuna puriens)*. Program Intensif Riset Dasar Kesehatan dan Obat-obatan. Universitas Katolik Soegijapranata. Semarang. 2007
19. Huang D.; Ou B.; Prior RL.: *The Chemistry Behind Antioxidant Capacity Assays*.

- J. Agricultural and Food. 2005.
20. Marjoni, M.R; Afrinaldi; Ari, D.N. Kandungan Total Fenol dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Air Daun Kersen (*Muntingia calabura L*). *Jurnal Kedokteran Yarsi*. 2015 : 23 (3). 187-196.
 21. Agustina, Eva. Uji Aktivitas Senyawa Antioksidan Dari Ekstrak Daun Tiin (*Ficus carica L*) dengan Pelarut Air, Metanol dan Campuran Metanol-Air. *Klorofil*. 2017 : 1(1). 38-47.
 22. Tjandra, O, Rusliati, T. R, Zulhipri, *Uji Aktivitas Antioksidan Dan Profil Fitokimia Kulit Rambutan Rapih (Nephelium lappaceum)*, Fakultas Kedokteran, Universitas Tarumanegara. Hal 2-5.
 23. Prayoga G. 2013. Fraksinasi,Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH dan Identifikasi Golongan Senyawa Kimia dari Ekstrak Teraktif Daun Sambang Darah (*Excoecaria cochinchinensis Lour*). *Fakultas Farmasi Program Studi Sarjana Ekstensi Universitas Indonesia*.
 24. Meyer, B. N., N. R. Fergini, J. E. Putnam, L. B. Jacobsen, D. E. Nicholas dan J. L. Mc Laughin. 1982. *Brine Shrimp: a Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents*. *Plant Medica* 45 (5): 31-34.
 25. Palar, H. 1994. *Pencemaran dan Toksikologi Logam Berat*. Jakarta: Rineka Cipta.
 26. Frank,A.B., S. Bittman, A.Douglas , Johnson, A.B.Frank. 1996. *Water Relations of CoolSeason Grasses*. Agronomy monograph no 34.
 27. Firman, Deddy.,dkk: *Aktivitas Antioksidan Ekstrak Umbi Bunga bangkai dari Berbagai Tingkat Polaritas Pelarut*. *Jurnal Riset Kimia*. Universitas Tadulako. Palu. 2016
 28. Agustina, Eva. Uji Aktivitas Senyawa Antioksidan Dari Ekstrak Daun Tiin (*Ficus carica L*) dengan Pelarut Air, Metanol dan Campuran Metanol-Air. *Klorofil*. 2017 : 1(1). 38-47.
 29. Olowa, Lilybeth F and Olga M. Nuneza. *Brine Shrimp Lethality Assay of the Ethanolic Extracts of Three Selected Species of Medicinal Plants from Iligab City, Philippines* *International Research Journal of Biological Sciences*. 2013: 2 (11). 74-77.
 30. Vrana, J.A and Grant, S., 2001. Synergistic induction of Apoptosis in Human Leukemia cells (U937) eposed to Bryostatin 1 and the Proteasome Inhibitor Lactacystin Involves Dysregulation of the PKC/MAP Cascade, *Blood*, 97 (7)

PENENTUAN KANDUNGAN FENOLIK TOTAL, UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN SITOTOKSIK EKSTRAK HEKSANA DAN ETIL ASETAT DAUN TUMBUHAN BUNGA BANGKAI (*Amorphophallus paeoniifolius* (Dennst.) Nicolson)

Bustanul Arifin*, Desilia Putri Revani, Suryati

Laboratorium Kimia Organik Bahan Alam Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Andalas
Jurusan Kimia FMIPA Unand, Kampus Limau Manis, 25163

*Email: ba_arifin@yahoo.co.id

Abstrak: Tumbuhan bunga bangkai (*Amorphophallus paeoniifolius* (Dennst.) Nicolson) telah digunakan dalam pengobatan tradisional untuk mencegah pendarahan dan mengobati luka. Ekstraksi daun tumbuhan bunga bangkai telah dilakukan dengan metode maserasi bertingkat dari pelarut non-polar hingga pelarut yang lebih polar. Daun tumbuhan bunga bangkai mengandung senyawa fenolik dan triterpenoid pada ekstrak heksana, sedangkan pada ekstrak etil asetat mengandung senyawa fenolik dan steroid. Pada penelitian kali ini dilakukan penentuan kandungan fenolik total, aktivitas antioksidan dan sitotoksik dari ekstrak heksana dan etil asetat daun tumbuhan bunga bangkai. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kandungan fenolik total pada ekstrak heksana dan etil asetat adalah 42,22 mg GAE/g dan 37,22 mg GAE/g. Aktivitas antioksidan ekstrak heksana bersifat lemah sebagai antioksidan dengan nilai IC_{50} 180,79 mg/L, sedangkan ekstrak etil asetat bersifat sangat lemah sebagai antioksidan dengan nilai IC_{50} 516,48 mg/L. Hasil uji sitotoksik menunjukkan bahwa ekstrak heksana bersifat toksik dengan nilai LC_{50} 346,74 mg/L dan ekstrak etil asetat bersifat tidak toksik dengan nilai LC_{50} 2137,9 mg/L.

Keywords: Daun tumbuhan bunga bangkai, *Amorphophallus paeoniifolius* (Dennst.) Nicolson, kandungan fenolik total, antioksidan, sitotoksik

I. Pendahuluan

Tumbuhan banyak memberikan manfaat dibidang kesehatan manusia sebagai komponen obat-obatan yang berharga¹. Salah satu obat bahan alami yang digunakan adalah tumbuhan bunga bangkai, karena telah digunakan dalam pengobatan tradisional untuk mencegah pendarahan dan mengobati luka².

Penemuan obat dari tumbuh-tumbuhan telah banyak yang dapat digunakan sebagai pengobatan kanker³. Umumnya penyakit kanker ditimbulkan oleh adanya pengaruh radikal bebas yang menyerang berbagai komponen sel dalam tubuh³. Salah satu mekanisme untuk mengatasi radikal bebas ialah melalui antioksidasi. Untuk menjalankan mekanisme tersebut diperlukan senyawa yang bersifat antioksidan. Antioksidan alami dapat diperoleh dari tumbuh-tumbuhan seperti sayuran, buah-buahan dan umbi-umbian⁴.

Salah satu tumbuhan yang mengandung antioksidan adalah tumbuhan golongan talas. Golongan talas yang telah diketahui aktivitas antioksidannya adalah tumbuhan bunga bangkai (*Amorphophallus paeoniifolius* (Dennst.) Nicolson) yang termasuk keluarga *Araceae* dan berpotensi dapat mengobati penyakit kanker⁵.

Berdasarkan hasil pemeriksaan skrining fitokimia terhadap sampel segar

umbi tumbuhan bunga bangkai didapatkan hasil bahwa umbi tumbuhan bunga bangkai mengandung senyawa golongan alkaloid, fenolik, flavonoid, triterpenoid dan steroid⁶. Tumbuhan ini dilaporkan memiliki sifat analgesik⁷ antioksidan pada ekstrak etanol umbi⁸. Senyawa hasil isolasi dari umbi mempunyai aktivitas antibakteri dan sitotoksik yaitu *ambylone*⁹, *3,5-diacetyltambulin*¹⁰ dan *salviasperanol*¹¹.

Berdasarkan studi pustaka, tumbuhan ini belum banyak diteliti, hanya yang telah dilakukan adalah bioaktivitas ekstrak dari umbi tumbuhan bunga bangkai. Kemudian belum banyak penelitian yang melaporkan senyawa hasil isolasi yang berpotensi sebagai antioksidan dan sitotoksik dari ekstrak heksana dan etil asetat daun tumbuhan bunga bangkai. Maka pada penelitian ini akan dilakukan ekstraksi dan uji profil fitokimia serta penentuan kandungan fenolik total, uji aktivitas antioksidan dan sitotoksik terhadap ekstrak heksana dan etil asetat daun tumbuhan bunga bangkai (*Amorphophallus paeoniifolius* (Dennst.) Nicolson).

II. Metodologi Penelitian

2.1 Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan ialah alat distilasi, oven, *rotary evaporator* Heidolp WB 2000, neraca analitik, spektro-

fotometer seri UV/VIS 1700, lampu UV ($\lambda = 254$ dan 365 nm).

Bahan yang digunakan ialah sampel daun tumbuhan bunga bangkai. Bahan kimia yang digunakan adalah akuades, metanol, heksana, etil asetat, pereaksi Mayer (raksa (II) klorida, kalium iodida), asam sulfat 2 N, kloroform-ammonia 0,05 M, pereaksi *Liebermann-Burchard* (LB), sianidin test (bubuk magnesium dan asam klorida p.a.), besi (III) klorida, NaOH (natrium hidroksida), asam galat, Na_2CO_3 20% (natrium karbonat), reagen Folin-Ciocalteu, DPPH, asam askorbat, larva udang *Arthemisa salina*, air laut dan DMSO (dimetil sulfoksida).

2.2 Prosedur Percobaan

2.2.1 Identifikasi Tumbuhan

Tumbuhan bunga bangkai diperoleh dari kota Padang, Provinsi Sumatera Barat. Bagian daun dan batang dipotong dan dijadikan spesimen untuk diidentifikasi di Herbarium Universitas Andalas (ANDA), Jurusan Biologi FMIPA Universitas Andalas.

2.2.2 Persiapan Sampel

Sampel daun tumbuhan bunga bangkai dirajang halus kemudian dikering anginkan pada udara terbuka yang tidak terkena cahaya matahari langsung. Setelah sampel tersebut kering (rapuh), dihaluskan menggunakan grinder sehingga menjadi bubuk dan ditimbang. Sampel yang telah berupa bubuk digunakan untuk proses ekstraksi.

2.2.3 Ekstraksi

Sampel bubuk daun tumbuhan bunga bangkai (450 gram) dimaserasi dengan pelarut heksana berulang kali sampai tidak meninggalkan bekas pada plat tetes. Hasil maserasi disaring dan filtrat yang diperoleh di pekatkan dengan *rotary evaporator* dan diperoleh ekstrak pekat dari pelarut heksana, kemudian ditimbang. Ampas hasil maserasi pelarut heksana dikeringanginkan. Setelah kering, ampas dimaserasi kembali dengan pelarut diklorometana (perlakuan sama seperti ekstraksi dengan pelarut heksana). Kemudian diulang lagi ekstraksi dengan menggunakan pelarut etil asetat dan 1-butanol. Perlakuan selanjutnya dilakukan uji fitokimia dan uji aktivitas terhadap ekstrak heksana dan etil asetat daun tumbuhan bunga bangkai.

2.2.4 Uji Fitokimia

Daun tumbuhan bunga bangkai diambil 5 gram kemudian dipotong kecil,

dimasukkan kedalam tabung reaksi dan diekstrak dengan metanol. Setelah itu ditambahkan 2 mL kloroform dan 2 mL akuades, kemudian diaduk dengan baik lalu dibiarkan sampai terbentuk dua lapisan yaitu lapisan kloroform dan lapisan akuades. Lapisan atas (akuades) digunakan untuk pemeriksaan flavonoid, saponin dan fenolik. Lapisan bawah (kloroform) digunakan untuk pemeriksaan senyawa triterpenoid dan steroid.

- a. Pemeriksaan flavonoid (*Sianidin test*)
Lapisan akuades yang telah dipisahkan diambil 5 tetes dan dimasukkan kedalam tabung reaksi lalu ditambahkan 1 mL asam klorida pekat dan 0,5 g serbuk magnesium. Terbentuk warna *orange* sampai merah menandakan positif flavonoid.
- b. Pemeriksaan fenolik
Lapisan akuades diambil 5 tetes dan dimasukkan kedalam tabung reaksi lalu ditambahkan larutan besi (III) klorida 5% sebanyak 5 tetes. Terbentuk warna biru atau ungu hitam menandakan positif fenolik.
- c. Pemeriksaan saponin
Lapisan akuades diambil 10 tetes dan dimasukkan kedalam tabung reaksi lalu dikocok kuat-kuat, terbentuk busa yang tidak hilang setelah penambahan 1-3 tetes asam klorida pekat menunjukkan adanya saponin.
- d. Pemeriksaan triterpenoid dan steroid
Lapisan kloroform dimasukkan pada dua lubang plat tetes sebanyak 2 tetes. Plat pertama ditambahkan pereaksi *Liebermann-Burchard* dan plat kedua digunakan sebagai pembanding. Adanya cincin merah atau merah ungu menunjukkan positif triterpenoid sementara cincin warna hijau atau hijau biru menunjukkan positif steroid. Jika keduanya positif akan timbul dua cincin pada plat.
- e. Pemeriksaan kumarin
Daun tumbuhan bunga bangkai diambil sebanyak 5 gram, kemudian dirajang halus dan diekstrak dengan metanol. Hasil ekstrak ditotolkan pada garis awal plat KLT dengan menggunakan pipa kapiler, dibiarkan kering di udara terbuka. Setelah itu, dielusi dalam chamber yang berisi 5 mL eluen etil asetat 100%. Noda dimonitor dibawah lampu UV (365 nm). Adanya fluoresensi biru dan warnanya

birunya semakin terang setelah disemprotkan NaOH 1% menunjukkan positif kumarin.

- f. Pemeriksaan alkaloid
Daun tumbuhan bunga bangkai diambil sebanyak 5 gram kemudian dipotong kecil-kecil, digerus dalam lumpang dengan bantuan pasir bersih. Kemudian ditambahkan 10 mL kloroform, 10 mL amonia-kloroform 0,05 M dan digerus. Filtrat sebanyak ditambahkan dengan 1 mL asam sulfat 2 N, dikocok perlahan dan biarkan sehingga terbentuk pemisahan lapisan asam sulfat dan kloroform. Kemudian diambil lapisan asam sulfat dan ditambahkan beberapa tetes pereaksi Mayer. Adanya endapan putih menunjukkan positif alkaloid.

2.2.5 Penentuan Kandungan Fenolik Total

Penentuan kandungan fenolik total dilakukan terhadap ekstrak heksana dan etil asetat dengan metoda Folin-Ciocalteu.

- a. Pembuatan Larutan Asam Galat
Larutan asam galat dibuat dengan konsentrasi 10; 40; 80; 100; 120 dan 160 mg/L. Masing-masing konsentrasi diambil 0,5 mL dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL, lalu ditambahkan 0,5 mL reagen Folin-Ciocalteu dan didiamkan selama 5 menit. Kemudian ditambahkan 1 mL natrium karbonat 20% dan diencerkan dengan akuades sampai tanda batas. Campuran didiamkan selama 2 jam. Kemudian diukur absorban pada panjang gelombang 765 nm. Berdasarkan nilai absorban yang didapatkan, dibuat kurva kalibrasi antara absorban dengan konsentrasi asam galat.
- b. Pembuatan Larutan Uji
Masing-masing ekstrak (ekstrak heksana dan etil asetat) dibuat konsentrasinya 1000 mg/L dengan pelarut metanol. Kemudian diambil masing-masing 0,5 mL dan dimasukkan kedalam labu ukur 10 mL dan ditambahkan 0,5 mL reagen Folin-Ciocalteu serta didiamkan selama 5 menit. Kemudian ditambahkan 1 mL natrium karbonat 20% dan diencerkan dengan akuades sampai tanda batas. Campuran didiamkan selama 2 jam. Kemudian diukur absorban pada panjang gelombang 765 nm. Kandungan fenolik total masing-masing larutan uji ditentukan dari

persamaan regresi kurva larutan standar. Kandungan fenolik total dinyatakan dalam *Galic Acid Equivalent* (GAE).

2.2.6 Penentuan Aktivitas Antioksidan

Uji aktivitas antioksidan terhadap ekstrak heksana dan etil asetat dilakukan dengan metoda DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazill).

Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan cara menambahkan 3 mL larutan DPPH 0,1 mM kedalam 2 mL masing-masing larutan sampel 6,25; 12,5; 25; 50 dan 100 mg/L. Sebagai kontrol negatif pada pengujian ini menggunakan 2 mL metanol ditambahkan 3 mL larutan DPPH. Lakukan pengerjaan ditempat yang gelap dan tidak terkena cahaya matahari. Selanjutnya diukur absorban dari masing-masing konsentrasi larutan uji dan control negatif pada panjang gelombang 517 nm menggunakan alat spektrofotometer. Berdasarkan absorban yang didapatkan, dihitung % inhibisi dengan rumus berikut:

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{Ac - A}{Ac} \times 100$$

Keterangan:

Ac = nilai absorbansi kontrol

A = nilai absorbansi sampel

Setelah didapatkan nilai % inhibisi dari perhitungan, dapat ditentukan nilai IC₅₀ dari setiap variasi konsentrasi larutan uji dengan menggunakan persamaan regresi yang didapatkan.

2.2.7 Uji Sitotoksik

Uji sitotoksik dilakukan terhadap ekstrak heksana dan etil asetat dengan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*).

- a. Pembenihan Larva Udang *Artemia salina leach*

Air laut dimasukkan ke dalam container gelas kecil yang terdiri dari dua bagian yaitu gelap dan terang, container dilengkapi dengan lampu, penutup dan *aerator*. Telur udang dimasukkan ke dalam bagian gelap container dan dibiarkan selama 48 jam. Setelah 48 jam, maka telur akan menetas menjadi larva (*naupili*) dan kemudian akan bergerak ke bagian terang container. Larva inilah yang akan digunakan sebagai hewan percobaan pada uji sitotoksik pada penelitian ini.

- b. Pembuatan Larutan Uji
Sebanyak 100 mg masing-masing dari ekstrak heksana dan etil asetat ditimbang dan dilarutkan dalam labu ukur 100 mL sampai tanda

- batas dengan masing-masing pelarut, dan diperoleh konsentrasi larutan induk 1000 mg/L. Larutan uji dibuat dengan beberapa variasi konsentrasi melalui pengenceran bertingkat konsentrasinya 1000; 500; 250; 125 dan 62,5 mg/L.
- c. Pengujian Sitotoksik
 Masing-masing larutan diambil 5 mL dengan konsentrasi 1000; 500; 250; 125 dan 62,5 mg/L ke dalam botol vial, kemudian diuapkan pelarut pada suhu kamar. Kemudian ditambahkan 50 µL larutan DMSO sampai semuanya larut dengan vortex. Selanjutnya ditambahkan 3 mL air laut terhadap masing-masing larutan uji. Masukkan masing-masingnya sebanyak 10 ekor larva udang kedalam setiap larutan uji. Kemudian cukupkan volumenya sampai 5 mL dengan air laut. Setelah itu dilakukan pengamatan terhadap larva udang didalam larutan uji

dengan cara menghitung jumlah larva yang mati setelah 24 jam. Hasil pengamatan dimasukkan ke dalam tabel probit dan diolah untuk mendapatkan nilai LC₅₀.

III. Hasil dan Pembahasan

3.1 Persiapan dan Identifikasi Tumbuhan Bunga Bangkai

Berdasarkan hasil identifikasi tumbuhan di Herbarium Universitas Andalas (ANDA) melalui surat Nomor 025/K-ID/ANDA/I/2020 diketahui bahwa sampel yang digunakan termasuk kedalam famili *Araceae*, spesies *Amorphophallus paeoniifolius* (Dennst.) Nicolson.

3.2 Pengujian Fitokimia

Penentuan metabolit sekunder dilakukan melalui uji profil fitokimia pada daun segar, ekstrak heksana dan etil asetat daun tumbuhan bunga bangkai. Hasil pengujian dicantumkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil uji fitokimia

No	Kandungan Metabolit Sekunder	Reagen	Indikator	Hasil		
				Daun segar	Ekstrak Heksana	Ekstrak Etil Asetat
1	Flavonoid	HCl + Mg	Terbentuk larutan berwarna orange-merah	+	-	-
2	Fenolik	FeCl ₃	Terbentuk larutan berwarna biru atau ungu hitam	+	+	+
3	Saponin	HCl pekat	Terbentuk busa yang tidak hilang dengan penambahan HCl pekat	-	-	-
4	Triterpenoid	LB	Terbentuk cincin merah atau ungu	+	+	-
5	Steroid	LB	Terbentuk cincin hijau/hijau biru	+	-	+
6	Alkaloid	Mayer	Terbentuk larutan keruh atau endapan putih	-	-	-
7	Kumarin	NaOH 1 %	Adanya fluoresensi biru terang setelah disemprot NaOH	-	-	-

Keterangan : + (mengandung metabolit sekunder)
 - (tidak mengandung metabolit sekunder)

Senyawa flavonoid tidak terdapat pada ekstrak heksana dan etil asetat, karena senyawa flavonoid umumnya bersifat polar sehingga akan teridentifikasi pada pelarut berikutnya. Triterpenoid hanya didapatkan pada ekstrak heksana, berarti golongan triterpenoid yang terdapat bersifat non polar. Sementara golongan steroid agak polar karena didapatkan pada

ekstrak etil asetat dan pada ekstrak heksana tidak ditemukan

3.3 Hasil Preparasi Sampel

Sampel segar daun tumbuhan bunga bangkai sebanyak 2500 gram dikeringkan dan diperoleh 450 kg sampel kering sehingga diketahui kadar air pada sampel sebesar 82,37% . Data ini menunjukkan bahwa kandungan air pada daun

tumbuhan bunga bangkai cukup besar. Proses pengeringan bertujuan untuk mempermudah pengerjaan saat ekstraksi karena adanya air di dalam sampel akan mempersulit proses penguapan pelarut dan juga memicu pertumbuhan jamur

3.4 Hasil Ekstraksi

Hasil ekstraksi terhadap sampel bubuk daun tumbuhan bunga bangkai sebanyak 450 gram dengan menggunakan pelarut heksana diperoleh massa ekstrak heksana yaitu 20,104 gram (4,47%). Sedangkan hasil ekstraksi dengan menggunakan pelarut etil asetat diperoleh sebanyak 5,635 gram (1,25%).

Berdasarkan data dapat diketahui bahwa kadar ekstrak dengan pelarut heksana lebih tinggi jika dibandingkan dengan ekstrak dengan pelarut etil asetat. Berarti senyawa nonpolar lebih banyak dibandingkan dengan senyawa semipolar pada daun bunga bangkai. Karena pelarut heksana merupakan pelarut non polar sedangkan etil asetat termasuk pelarut semipolar.

3.5 Penentuan Kandungan Fenolik Total

Kandungan total fenolik dinyatakan dalam *Galic Acid Equivalent* (GAE). Persamaan regresi asam galat yaitu $y = 0,0036x + 0,022$ dengan nilai $R^2 = 0,9992$. Berdasarkan nilai R tersebut dapat dinyatakan bahwa konsentrasi asam galat berbanding lurus dengan absorban. Data analisis total fenolik ekstrak heksana dan etil asetat terlihat pada Tabel 2.

Tabel 2 Data kandungan total fenolik ekstrak heksana dan etil asetat daun tumbuhan bunga bangkai

Ekstrak	Kandungan Fenolik total
	(mg GAE/g)
Heksana	42,22
Etil Asetat	37,22

Berdasarkan Tabel 2 diatas, ekstrak heksana mengandung total fenolik lebih besar jika dibandingkan dengan ekstrak etil asetat. Berarti senyawa golongan fenolik banyak yang terlarut di pelarut heksana jika dibandingkan dengan pelarut etil asetat. Kondisi ini disebabkan karena proses ekstraksi daun tumbuhan bunga bangkai menggunakan metoda maserasi bertingkat, yaitu diekstrak dengan pelarut heksana kemudian berturut-turut menggunakan pelarut diklorometana dan etil asetat. Sehingga senyawa fenolik yang terdapat pada daun tumbuhan bunga bangkai telah terekstrak dengan pelarut heksana. Hal ini mengakibatkan

kandungan fenolik pada ekstrak etil asetat lebih sedikit karena sudah ada yang terekstrak dengan pelarut heksana dan diklorometana.

Pelarut yang digunakan mempunyai tingkat polaritas yang berbeda yaitu pelarut heksana, diklorometana, dan etil asetat memiliki nilai polaritas berturut-turut 0; 3,1; 4,4. Hal ini juga diperkuat pada penelitian Qayum (2016) terhadap tumbuhan *Heliotropium Strigosum* pada pelarut heksana dan etil asetat sama-sama terekstrak senyawa fenolik yaitu asam kromatotropat dan asam trans-4-hidroksi-3-metoksi sinamat¹².

3.6 Penentuan Aktivitas Antioksidan

Aktivitas antioksidan ekstrak heksana dan etil asetat ditentukan dengan metoda DPPH. Hasil uji antioksidan dari ekstrak dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil uji aktivitas antioksidan dari ekstrak heksana dan etil asetat daun tumbuhan bunga bangkai

Sampel Uji	IC ₅₀ (mg/L)
Ekstrak Heksana	180,79
Ekstrak Etil Asetat	516,48
Asam Askorbat	3,37

Berdasarkan data pada Tabel 3 dapat dilihat bahwa ekstrak heksana mempunyai nilai IC₅₀ lebih kecil jika dibandingkan dengan ekstrak etil asetat. Hasil ini menunjukkan adanya korelasi positif dengan kandungan fenolik total pada heksana yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan ekstrak etil asetat. Begitu juga jika dibandingkan dengan nilai IC₅₀ dengan asam askorbat sebagai kontrol positif yang memiliki nilai IC₅₀ yang kecil jika dibandingkan dengan ekstrak heksana dan ekstrak etil asetat. Penghambatan 50% terhadap reaksi radikal DPPH tersebut diperoleh dari kurva antara % inhibisi terhadap konsentrasi sampel, dari persamaan regresi $y = 0,2253x + 9,2675$ sehingga nilai IC₅₀ untuk ekstrak heksana sebesar 180,79 mg/L dan termasuk intensitas antioksidan lemah. Sedangkan untuk penghambatan 50% ekstrak etil asetat di peroleh dari kurva antara % inhibisi terhadap konsentrasi sampel dari persamaan regresi $y = 0,0883x + 4,395$ sehingga nilai IC₅₀ untuk ekstrak etil asetat sebesar 516,48 mg/L dan juga termasuk intensitas antioksidan sangat lemah. Apabila dibandingkan dengan asam askorbat memiliki IC₅₀ 3,37 mg/L,

sehingga asam askorbat memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat.

Semakin kecil nilai IC₅₀ maka aktivitas penangkapan radikal bebas juga semakin tinggi. Hal ini disebabkan oleh adanya senyawa fenolik aktif yang mendukung aktivitas antioksidan. Aktivitas antioksidan digolongkan sangat kuat (IC₅₀ < 50 mg/L), kuat (IC₅₀ < 100 mg/L), sedang (100 mg/L < IC₅₀ < 150 mg/L), lemah (150 mg/L < IC₅₀ < 200 mg/L), dan sangat lemah (IC₅₀ > 200 mg/L)¹³. Hal ini menunjukkan bahwa kandungan senyawa dalam ekstrak heksana dan etil asetat memberikan kontribusi yang kurang terhadap aktivitas antioksidan. Semakin tinggi kandungan fenolik total maka semakin besar aktivitas antioksidannya. Aktivitas antioksidan ekstrak heksana dan etil asetat daun tumbuhan bunga bangkai tergolong lemah. Rendahnya aktivitas antioksidan dari ekstrak kasar kemungkinan karena kadar senyawa antioksidan dalam ekstrak sangat rendah akibat banyaknya

komponen lain yang tidak bersifat antioksidan¹⁴.

Aktivitas antioksidan terhadap ekstrak umbi tumbuhan bunga bangkai telah dilakukan pada penelitian sebelumnya. Hasil yang diperoleh menunjukkan aktivitas antioksidan pada ekstrak heksana adalah 14,96% , sedangkan pada ekstrak etil asetat, ekstrak etanol dan vitamin C menghasilkan masing-masing nilai IC₅₀ adalah 458,102 mg/L, 223,268 mg/L dan 26,76 mg/L³⁰. Sehingga dapat disimpulkan aktivitas antioksidan untuk ekstrak heksana dan etil asetat tumbuhan bunga bangkai tergolong lemah.

3.7 Uji Sitotoksik

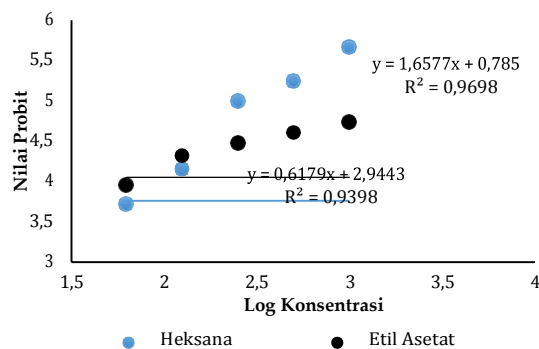
Uji aktivitas sitotoksik dari ekstrak heksana dan etil asetat daun tumbuhan bunga bangkai dilakukan dengan menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Pada metode ini sifat sitotoksik ditentukan melalui penentuan nilai LC₅₀ pada beberapa variasi konsentrasi larutan uji

Tabel 4 Hasil pengamatan uji sitotoksik ekstrak heksana dan etil asetat daun tumbuhan bunga bangkai

Ekstrak	Konsentrasi (µg/mL)	Total Larva yang mati (ekor)			Persen Kematian (%)	Nilai Probit	log C	LC ₅₀ (mg/L)
		I	II	Rata-rata				
Heksana	62,5	1	1	1	10	3,72	1,7959	346,74
	125	2	2	2	20	4,16	2,0969	
	250	5	5	5	50	5,00	2,3979	
	500	6	6	6	60	5,25	2,6939	
	1000	8	7	7,5	75	5,67	3	
Etil Asetat	62,5	1	2	1,5	15	3,95	1,7959	2137,9
	125	2	3	2,5	25	4,33	2,0969	
	250	3	3	3	30	4,48	2,3979	
	500	4	3	3,5	35	4,61	2,6989	
	1000	4	4	4	40	4,75	3	
Kontrol	0	0			0	0	0	

Keterangan : pengerjaan tiap konsentrasi dilakukan duplo dan larva udang yang dimasukkan ke dalam tiap vial berjumlah 10 ekor

Persentase kematian larva udang pada berbagai variasi konsentrasi dikonversikan menjadi nilai probit dengan menggunakan tabel nilai probit sesuai persentase kematian. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa konsentrasi larutan sebanding dengan jumlah larva udang yang mati. Pada masing-masing ekstrak menunjukkan jumlah kematian udang yang berbeda-beda. Hal ini dapat dilihat dari nilai LC₅₀ masing-masing ekstrak. Nilai LC₅₀ dihitung berdasarkan nilai persamaan regresi antara log konsentrasi dengan nilai probit.



Gambar 2 Kurva regresi penentuan nilai LC₅₀ ekstrak heksana dan etil asetat

Dari hasil ini diperoleh nilai LC₅₀ ekstrak heksana dan etil asetat masing-masing yaitu 346,74 mg/L dan 2137,9 mg/L. Berdasarkan literatur, dijelaskan bahwa tingkat toksisitas suatu senyawa dikatakan tidak toksik jika nilai LC₅₀ >1000 mg/L, dikatakan toksik jika nilai LC₅₀ 30-1000 mg/L dan dikatakan sangat toksik jika nilai LC₅₀ <30 mg/L⁷. Sehingga aktivitas sitotoksik pada ekstrak heksana bersifat toksik dengan nilai LC₅₀ diantara 30-1000 mg/L. Sedangkan ekstrak etil asetat bersifat tidak toksik karena memiliki LC₅₀ lebih dari 1000 mg/L.

IV. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan terhadap ekstrak heksana dan etil asetat daun tumbuhan bunga bangkai, dapat disimpulkan bahwa senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak heksana yaitu fenolik dan triterpenoid. Sedangkan ekstrak etil asetat mengandung senyawa metabolit sekunder yaitu fenolik dan steroid. Kandungan fenolik total pada ekstrak heksana dan etil asetat berturut-turut adalah 42,22 mg GAE/mg dan 37,22 mg GAE/mg. Aktivitas antioksidan ekstrak heksana bersifat lemah dan ekstrak etil asetat bersifat sangat lemah sebagai antioksidan. Dari hasil uji sitotoksik menunjukkan bahwa ekstrak heksana bersifat toksik dan ekstrak etil asetat bersifat tidak toksik.

Referensi

1. Rakesh, P.; Manisha, K.; Rahul, U.; Sachin, P. and Navin, S. *Colocasia esculenta*: A Potent Indigenous Plant. *Int J Nutr Pharmacol Neural Dis* 2011,1, 90-6.
2. Firman, D.; Nurhaeni, N.; Ridhay, A. Antioxidant Activity Of Umbi *suweg* (*Amorphophallus paeoniifolius*) Extract From Various Level Of Solvents Polarity *Kovalen*, 2016, 2, 1, 61-69.
3. Nweman, D. J.; Cragg, G. M. and Sander K. M. The Influence of atural productes upon drug discovery. *Nat. Prod. Rep.* 2000, 17, 215, 3.
4. Widyastuti, W. dan Suarsana, S. Daya Antioksidan dan Kadar Flavonoid Hasil Ekstraksi Etanol-air. *Fakultas Kedokteran. Universitas Udayana: Bali*.
5. Fenglin, F. Kegiatan Pemulungan Radikal Bebas Ekstrak Daun Segar Diolah dari Tanaman Obat Cina. *Fitoterapi*, 2003, 75, 1, 1-7.
6. Khan, A.; Rahman, M. and Islam, M. S. Antibacterial, Antifungal and Cytotoxic Activities of Tuberous Roots of *Amorphophallus campanulatus*. *Turk J Biol* 2007, 31, 167-172.
7. Dey, Y. N.; De, S.; Ghosh, A.K. Evaluation of analgesic activity of methanolic extract of *Amorphophallus paeoniifolius* tuber by tail flick and acetic acid-induced writhing response method. *Int J Pharma Bio Sci*, 2010, 1, 4, 662-668.
8. Jayaraman, A.; Kunga, M.R.; Ulaganathan, P.; Poornima, R. Antioxidant potential of *Amorphophallus paeoniifolius* in relation to their phenolic content. *Pharm Biol*, 2010, 48, 6, 659-665.
9. Jayaraman, A.; Kunga, M. R.; Ulaganathan, P.; Poornima, R. Cytotoxic activity of *Amorphophallus paeoniifolius* tuber extracts in vitro. *American-Eurasian J Agric & Environ Sci*, 2007, 2, 4, 395-398.
10. Khan, A.; Moizer, R.; Islam, M. S. Antibacterial, antifungal and cytotoxic activities of amblyone isolated from *Amorphophallus campanulatus* Blume ex. Decne. *Indian J Pharmacol*, 2008, 40, 1, 41-44.
11. Khan, A.; Moizer, R.; Islam, M. S. Antibacterial, antifungal and cytotoxic activities of 3,5-Diacetyltambulin isolated from *Amorphophallus campanulatus*. *Indian J Pharmacol*, 2008, 16, 4, 239-244.
12. Qayyum, A.; Sarfraz, R.A.; Ashraf, A dan Adil, S. Phenolic Composition and Biological (Anti Diabetic and Antioxidant) Activities of Different Solvent Extracts of an Endemic Plant (*Heliotropium Strigosum*), *J. Chil. Chem. Soc.*, 2016, 1.
13. Leksono, W. B.; Pramesti, R.; Santosa, W. G. dan Setyati, W. A. Jenis Pelarut Metanol dan N-Heksana Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rumput Laut *Gelidium sp.* dari Pantai Drini Gunungkidul – Yogyakarta. *Jurnal Kelautan Tropis* 2018 21, 1, 9–16.
14. Wikanta, T.; Januar, H. I. dan Nursid, M. Uji Aktivitas Antioksidan, Toksisitas, dan Sitotoksitas Ekstrak Alga Merah *Rhodomenia palmat.* *Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia* 2005, 11, 4.
15. Ekowati, G.; Yanuwadi, B.; Azrianingsih, R. Sumber Glukomanan Dari Edible Araceae Di Jawa Timur. *J-PAL*, 2015, 6, 1, 32-41.