JURNAL KIMIA UNAND

ISSN No. 2303-3401

Volume 7 Nomor 2
Mei, 2018

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.	**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN, TOKSISITAS DAN KANDUNGAN FENOLIK TOTAL DARI DAUN PURING MERAH (*Codiaeum variegatum* (L.) Rumph)** **Emil Salim, Hasnirwan, Seri Sartika**	1-8
2.	**PENENTUAN KANDUNGAN FENOLIK TOTAL, UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN, AKTIVITAS ANTIMIKROBA DAN SITOTOKSIK DARI FRAKSI METANOL DAUN MIANA (*Plectranthus Scutellarioides* (L.) R. Br)** **Suryati, Bustanul Arifin, Wize Adriani**	9-15
3.	**VALIDASI METODE DPPH UNTUK PENENTUAN KANDUNGAN ANTIOKSIDAN TOTAL PADA BAYAM, SELEDRI, SAWI HIJAU, SAWI PUTIH DAN DAUN BAWANG DALAM PELARUT METANOL DAN HEKSANA SECARA SPEKTROFOTOMETRI** **Yefrida, Muhamad Ali Anwar, Refilda**	16-21
4.	**PENENTUAN KANDUNGAN FENOLIK TOTAL, UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN, AKTIVITAS ANTIMIKROBA, DAN UJI SITOTOKSIK DARI EKSTRAK HEKSANA DAUN MIANA (*Plectranthus scutellarioides* (L.) R. Br)** **Suryati, Bustanul Arifin , Febria Syafitri**	22-28
5.	**PENGUJIAN ANTIBAKTERI DAN ANTIJAMUR DARI DAUN PURING MERAH (*Codiaeum variegatum* (L.) Rumph)** **Hasnirwan, Vinny Jovalyna, Adlis Santoni**	29-35
6.	**PEMBUATAN KITOSAN DARI KULIT PENSI (*Corbicula moltkiana*) SERTA UJI SIFAT FISIKA DAN KIMIANYA** **Yulizar Yusuf, Vicya Merry F., Safni**	36-41
7.	**EFEK INDUKSI DARI *Chlorella vulgaris* TERHADAP SUB AKUT TOKSISITAS DELTAMETHRIN (DLM) PADA MENCIT** **Rita Wulandari, Armaini, Abdi Dharma**	42-48

8. **ANALISIS KUALITAS AIR LAHAN BEKAS TAMBANG BATU BARA TERHADAP SIFAT KIMIA (PH DAN KONSENTRASI LOGAM CD, PB, FE, CU) DAN SIFAT FISIKA (TEMPERATUR, KONDUKTIVITAS, TDS) DI DANAU BIRU KOTA SAWAHLUNTO** **49-55**
Hermansyah Aziz, Yulizar Yusuf, Mu'ammar Irfan Mawardi*

9. IDENTIFIKASI SENYAWA METABOLIT SEKUNDER, UJIAKTIVITAS ANTIBAKTERI, DANUJIAKTIVITAS ANTIOKSIDAN DARI EKSTRAK RANTINGBENALUJENGKOL(*Scurrula ferruginea* (Jack) Danser) **56-62**
Norman Ferdinal,Adlis Santoni, Indra*

UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN, TOKSISITAS DAN KANDUNGAN FENOLIK TOTAL DARI DAUN PURING MERAH (*Codiaeum variegatum* (L.) Rumph)

Emil Salim*, Hasnirwan, Seri Sartika

Laboratorium Kimia Organik Bahan Alam, Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Andalas, Kampus Limau Manis, Padang, 25163 Indonesia.
*E-mail : emilsalim@sci.unand.ac.id

Abstrak:Puring (*Codiaeum variegatum* (L.) Rumph merupakan tanaman yang memiliki tingkat keragaman yang sangat tinggi baik dalam warna maupun bentuk daun.Selain dapat digunakan sebagai tanaman hias, puring juga dapat dimanfaatkan sebagai tanaman obat diantaranya obat antifungal, antikanker, obat diare berdarah, obat penahan rasa sakit dan sebagai anti influenza. Uji kualitatif kandungan senyawa metabolit sekunder dari daun puring menunjukkan adanya flavonoid, fenolik, triterpenoid, steroid dan alkaloid.Kandungan fenolik total yang terdapat pada ekstrak etanol, fraksi etil asetat, fraksi n-heksana dan fraksi air secara berturut-berturut adalah 0,264; 0,298; 0,144 dan 0,378 mg GAE/mg ekstrak. Aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode DPPH menunjukkan bahwa ekstrak etanol memiliki aktivitas antioksidan dengan kekuatan sedang,diperoleh nilai IC_{50} sebesar 245,94 mg/L, fraksi etil asetat dan fraksi air bersifat kuat antioksidan dengan nilai IC_{50}secara berturut-turut23,80 dan 16,46 mg/L, sedangkan fraksi n-heksana tidak aktif sebagai antioksidan karena nilai IC_{50} sebesar 536,15 mg/L. Aktivitas toksisitas dari ekstrak etanol, fraksi etil asetat, fraksi n-heksana dan fraksi air menunjukkan bahwa ekstrak dan fraksi tersebut bersifat toksik karena nilai LC_{50} yang diperoleh kecil dari 1000 mg/L. Nilai LC_{50} masing-masing ekstrak dan fraksi secara berturut-turut adalah 79,43; 169,82; 31,62 dan 512,86 mg/L.

Kata kunci: *Codiaeum variegatum* (L.) Rumph, metabolit sekunder, antioksidan, fenolik total, toksisitas.

1. Pendahuluan

Indonesia merupakan salah satu negara yang memiliki keanekaragaman tanaman.Banyak tanaman yang dapat tumbuh dengan subur karena Indonesia merupakan salah satu negara yang beriklim tropis dengan curah hujan yang tinggi setiap tahunnya.Tanaman merupakan salah satu bagian terpenting dalam kehidupan manusia, karena tanpa adanya tanaman kehidupan tidak akan dapat berlangsung. Tanaman memiliki manfaat yang sangat banyak jika dibudidayakan dengan baik, sehingga dapat dimanfaatkan untuk berbagai kebutuhan seperti sebagai sumber makanan, penyedia udara segar, dan sebagai sumber obat-obatan [1].

Salah satu tanaman hias yang dapat digunakan sebagai sumber obat adalah puring merah.Tanaman puring termasuk keluarga *Euphorbiaceae*. Tanaman ini sangat banyak jenisnya, diduga diseluruh Asia dan Pasifik jenis puring mencapai sekitar 1600 varietas yang tersebar di berbagai belahan dunia, khususnya negara-negara yang memiliki intensitas sinar matahari yang cukup tinggi seperti di Indonesia, Sri Lanka, Malaysia, Kepulauan Fiji, Thailand, India dan Filipina. Sebenarnya tanaman puring telah lama dikenal oleh masyarakat Indonesia, tanaman ini ditanam sebagai penghias taman, untuk pagar, atau sebagai tanaman peneduh di makam-makam [1].

Pada penelitian sebelumnya, belum ada laporan mengenai bioaktivitas dari tanaman puring. Secara tradisional, tanaman puring dapat digunakan sebagai obat antikanker [2]. Salah satu penyebab dari kanker adalah adanya senyawa radikal di dalam tubuh yang tidak bisa dikendalikan oleh antioksidan yang ada di dalam tubuh [3]. Oleh karena itu, diperlukan suatu penangkal radikal dari luar agar dapat mencegah terbentuknya radikal bebas, salah satunya adalah senyawa fenolik [3].Berdasarkan hal tersebut maka

dilakukan beberapa uji bioaktivitas pada daun puring yaitu uji aktivitas antioksidan, uji toksisitas dan menentukan kandungan fenolik totalnya.

2. Metodologi Penelitian

2.1 Alat

Peralatan yang digunakan adalah maserator, beberapa peralatan gelas, lampu spiritus, plat KLT, aluminium voil, kertas saring, tisu, botol vial, alat distilasi, neraca analitik, grinder, oven, *rotary evaporator*, lampu *UV* (λ 254 dan 356 nm) dan spektrofotometer UV-Vis.

2.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun puring, pelarut teknis yang telah didistilasi seperti n-heksana, etil asetat, dan etanol. Pereaksi *Mayer* dan asam sulfat 2 N untuk identifikasi alkaloid, pereaksi *Liebermann-Burchard* (asam sulfat pekat dan anhidrida asetat) untuk identifikasi triterpenoid dan steroid, bubuk magnesium dan asam klorida pekat untuk identifikasi flavonoid, besi (III) klorida 1% untuk identifikasi fenolik, natrium hidroksida untuk uji kumarin. Untuk uji antioksidan dan kandungan fenolik total digunakan reagen *Folin-Ciocalteu*, natrium karbonat, asam galat, asam askorbat, DPPH, akuades.Untuk uji toksisitas digunakan dimetilsulfoksida (DMSO).

2.3 Pembuatan reagen

2.3.1 Pereaksi Mayer

Sebanyak 1,36 gram raksa (II) klorida ditimbang dengan menggunakan neraca analitik, kemudian dimasukkan ke dalam gelas piala dan dilarutkan dengan 60 mL akuades (larutan 1). Pada gelas piala lain dilarutkan 1 gram kalium iodida dengan menggunakan 10 mL akuades (larutan 2). Kedua larutan dicampurkan lalu disaring, kemudian dilakukan pengenceran dengan akuades dalam labu ukur 100 mL.

2.3.2 Pereaksi Liebermann-Burchard

Anhidrida asetat dan asam sulfat pekat masing-masingnya sebanyak 5 mL dicampurkan secara perlahan di dalam gelas piala, kemudian diencerkan hingga 100 mL dengan pelarut metanol.

2.3.3 Larutan besi (III) klorida

Kristal besi (III) klorida ditimbang sebanyak 1 gram lalu dimasukkan ke dalam gelas piala, kemudian dilarutkan dan diencerkan dengan akuades hingga volume 100 mL.

2.3.4 Larutan asam sulfat 2 N

Asam sulfat pekat sebanyak 13,9 mL dimasukkan ke dalam gelas piala yang berisi 100 mL akuades melalui dinding gelas secara perlahan, kemudian diencerkan sampai volume 250 mL.

2.3.5 Larutan natrium hidroksida 1 %

Natrium hidroksida ditimbang sebanyak 1 gram, kemudian dilarutkan dengan akuades sampai volume 100 mL di dalam gelas piala.

2.4 Uji fitokimia daun puring

Uji fitokimia bertujuan untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam sampel. Pada penelitian ini akan dilakukan uji fitokimia senyawa flavonoid, fenolik, triterpenoid, steroid, alkaloid, saponin dan kumarin yang terkandung pada daun puring.

2.4.1 Pemeriksaan flavonoid, fenolik dan saponin

Daun puring sebanyak 3 gram diekstraksi dengan menggunakan etanol.Hasil ekstraksi diambil dan dimasukkan ke dalam 3 tabung reaksi, masing-masingnya sebanyak 2 mL.Pada tabung reaksi pertamaditambahkan HCl pekatbeberapa tetes dan beberapa butir bubuk magnesium. Warna jingga sampai merah menunjukkan positif flavonoid[4].Pada tabung reaksi kedua ditambahkan larutan besi (III) klorida, jika menghasilkan warna biru sampai hijau pekat memberikan indikasi positif fenolik[5].Untuk tabung reaksi ketiga ekstrak dalam tabung dikocok beberapa saat, bila terbentuk busa dan tidak hilang saat penambahan asam klorida menunjukkan positif saponin [5].

2.4.2 Pemeriksaan triterpenoid dan steroid

Larutan ekstrak daun puring sebanyak 2 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan akuades terlebih dahulu dan kemudian kloroform (1:1), dibiarkan sampai terbentuk bidang batas. Pemeriksaan triterpenoid dan steroid dilakukan pada lapisan kloroform. Lapisan

kloroform dipipet dan diteteskan pada lubang plat tetes, kemudian ditambahkan asam sulfat pekat dan anhidrida asetat. Terbentuknya cincin warna merah atau merah keunguan memberikan indikasi positifi terpenoid sementara warna hijau atau hijau kebiruan mengindikasikan positif steroid [5].

2.4.3 Pemeriksaan alkaloid

Larutan ekstrak daun puring sebanyak 2 mL ditambahkan 2 mL kloroform, kemudian 10 mL kloroform-amoniak 0,05 M, dan diaduk. Sebanyak 2 mL filtrat diambil dan kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi, 2 mL asam sulfat 2N ditambahkan, dikocok, dan didiamkan sejenak hingga terbentuk dua lapisan yaitu lapisan asam dan kloroform. Ambil lapisan asam sulfat dengan menggunakan pipet dan pindahkan ke dalam tabung reaksi lain kemudian tambahkan beberapa tetes pereaksi *Mayer*. Terbentuknya endapan putih menandakan positif alkaloid[4].

2.4.4 Pemeriksaan kumarin

Larutan ekstrak daun puring ditotolkan pada plat KLT (Kromatografi Lapis Tipis) menggunakan pipa kapiler dan dielusi dengan n-heksana :etil asetat (8:2). Dilakukan fluorisensi di bawah lampu UV pada panjang gelombang 365 nm dan 254 nm, kemudian noda pada plat KLT disemprotkan larutan NaOH 1%dan dilakukan pengamatan kembali dengan lampu UV. Adanya kumarin ditandai dengan fluoresensi biru terang.

2.5 Ekstraksi dan fraksinasi

2.5.1 Ekstraksi sampel

Bubuk halus daun puring sebanyak 1 Kg diekstraksi dengan metode maserasi (perendaman) menggunakan pelarut etanol. Maserasi dilakukan selama 3 hari dengan dilakukan pengadukan setiap hari, kemudian disaring dengan kertas saring. Proses maserasi diulangi sebanyak 8 kali dengan pelarut etanol sampai seluruh senyawa yang terdapat di dalam sampel terekstrak semuanya. Setiap filtrat hasil maserasi diuapkan pelarutnya dengan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40 ^{o}C hingga didapatkan ekstrak pekat etanol.

2.5.2 Fraksinasi ekstrak etanol

Ekstrak pekat etanol yang diperoleh pada proses ekstraksi di fraksinasi menggunakan 2 pelarut yaitu n-heksana dan etil asetat. Fraksinasi dilakukan dengan menggunakan corong pisah 250 mL. Ekstrak etanol yang diperoleh disuspensi dengan air dan ditambahkan n-heksana. Kemudian dimasukkan ke dalam corong pisah dan dilakukan pengocokan selama ± 5 menit. Setelah pengocokan, campuran didiamkan hingga terbentuk dua lapisan yaitu lapisan fraksi n-heksana dan lapisan air. Lapisan tersebut dipisahkan sehingga diperoleh fraksi n-heksana

Setelah itu dilanjutkan fraksinasi menggunakan pelarut etil asetat. Lapisan air yang sudah dipisahkan dari fraksi n-heksana ditambahkan dengan etil asetat. Kemudian dimasukkan ke dalam corong pisah dan dilakukan pengocokan selama ± 5 menit. Setelah pengocokan, campuran didiamkan hingga terbentuk dua lapisan yaitu lapisan fraksi etil asetat dan lapisan air. Lapisan tersebut dipisahkan sehingga diperoleh fraksi etil asetat. Masing-masing fraksi diuapkan menggunakan *rotary evaporator*. Fraksi yang diperoleh dilakukan uji aktivitas antioksidan, uji toksistas, dan ditentukan kandungan fenolik totalnya.

2.6 Uji kandungan fenolik total

Uji kandungan fenolik total dilakukan dengan menggunakan metode *Folin-Ciocalteu*[6].

2.6.1 Pembuatan larutan standar asam galat

Larutan standar dibuat dengan melarutkan 10mg asam galat dalam labu ukur 10 mL menggunakan akuades, sehingga didapatkan larutan induk asam galat dengan konsentrasi 1000 mg/L. Larutan induk tersebut dibuat variasi konsentrasi yaitu 10; 20; 40; 60; 80 dan 100 mg/L. Masing-masing variasi konsentrasi diambil sebanyak 0,5 mL, kemudian ditambahkan dengan 0,5 mL reagen *Folin-Ciocalteu* dan didiamkan selama 5 menit. Kemudian ditambahkan 1 mL larutan 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

regresi dan didapatkan persamaan regresi dari larutan standar asam galat.

2.6.2 Pembuatan larutan uji

Masing-masing ekstrak dan fraksi ditimbang sebanyak 100 mg dan dilarutkan dengan etanol dalam labu ukur 100 mL sehingga didapatkan larutan induk dengan konsentrasi sebesar 1000 mg/L. Larutan induk 1000 mg/L dipipet sebanyak 1 mL dan diencerkan hingga konsentrasi 100 mg/L, kemudian diambil sebanyak 0.5 mL dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL. Reagen *Folin-Ciocalteu* sebanyak 0,5 mL ditambahkan ke dalam labu ukur dan didiamkan selama 5 menit. Kemudian ditambahkan 1 mL larutan natrium karbonat 20% dan diencerkan dengan akuades sampai tanda batas. Campuran didiamkan selama dua jam, kemudian diukur absorbannya pada panjang gelombang 765 nm. Kandungan fenolik total masing-masing larutan uji ditentukan dari persamaan regresi kurva larutan standar asam galat. Kandungan fenolik total dinyatakan dalam *Gallic Acid Equivalent* (GAE).

2.7 Uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH

Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan metode DPPH[7].Uji aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode DPPH dilakukan dengan berbagai tahapan, yaitu:

2.7.1 Pembuatan larutan DPPH

DPPH ditimbang 4 mg kemudian dilarutkan dengan menggunakan etanol dalam labu ukur 100 mL hingga tanda batas dan didapatkan larutan DPPH 0,1 mM.

2.7.2 Pembuatan larutan uji

Masing-masing ekstrak dan fraksi ditimbang sebanyak100 mg dan dilarutkan dengan etanoldalam labu ukur 100 mL sehingga didapatkan larutan induk dengan konsentrasi sebesar 1000 mg/L. Kemudian dibuat variasi konsentrasi larutan uji yaitu10; 20; 30; 40; 50; 60 (mg/L) untuk fraksi etil asetat dan fraksi air, 200; 300; 400; 500; 600; 700 (mg/L) untuk ekstrak etanol dan fraksi n-heksana.

2.7.3 Pembuatan larutan kontrol positif

Asam askorbat ditimbang 10mg, dilarutkan dengan etanoldalam labu ukur 10 mL sehingga didapatkan konsentrasi larutan sebesar 1000 mg/L. Dibuat variasi konsentrasi 6,25 ; 12,5 ; 25; 50; 100 mg/L.

2.7.4 Pengujian aktivitas antioksidan

Masing-masing variasi konsentrasi dari larutan uji dimasukkan ke dalam vial sebanyak 2 mL, ditambahkan dengan 3 mL DPPH 0,1 mM. Campuran didiamkan selama 30 menit setelah penambahan DPPH 0,1 mM. penambahan DPPH dilakukan di tempat yang gelap. Absorban dari masing-masing konsentrasi larutan, kontrol negatif, dan kontrol positif diukur pada panjang gelombang 517 nm. Berdasarkan absorban yang didapatkan, dihitung persentase inhibisi dan dihitung nilai IC_{50} dari setiap variasi konsentrasi larutan uji dapat diketahui dengan menggunakan persamaan regresi dari data yang didapatkan.

2.8 Uji toksisitas

Pengujian toksisitas dari ekstrak daun puring dilakukan dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)[8]. Metode ini dilakukan untuk skrining awal toksisitas ekstrak yang didapatkan.

2.8.1 Pembenihan larva udang Arthemia salina

Air laut sebanyak 1 L dimasukkan ke dalam wadah kaca yang terdiri dari dua bagian yaitu bagian gelap dan terang yang dilengkapi dengan lampu, penutup, dan *aerator*. Telur udang dimasukkan ke dalam bagian gelap pada wadah kaca dan dibiarkan selama 48 jam. Setelah 48 jam, maka telur akan menetas menjadi larva dan kemudian akan bergerak ke bagian terang pada wadah. Larva inilah yang akan digunakan sebagai hewan percobaan uji toksisitas dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) pada penelitian ini.

2.8.2 Pembuatan larutan uji

Masing-masing ekstrak dan fraksi ditimbang sebanyak 100 mg, kemudian dilarutkan dengan masing-masing pelarutnya dalam labu 100 mL sampai tanda batas. Sehingga diperoleh larutan induk dengan konsentrasi 1000 mg/L. Setiap larutan induk dibuat beberapa variasi konsentrasi yaitu 31,25; 62,5; 125; 250; 500, 1000 mg/L. Setiap variasi konsetrasi tersebut diambil sebanyak 5 mL dan dimasukkan ke dalam botol vial,

kemudian dibiarkan sampai semua pelarut mengering.

2.8.3 Pengujian toksisitas

Ekstrak dan fraksi yang telah dikeringkan ditambahkan 50 µL larutan dimetilsulfoksida (DMSO) untuk melarutkan sampel. Kemudian ditambahkan 2 mL air laut terhadap masing-masing sampel. Lalu ditambahkan masing-masing sebanyak 10 ekor larva udang. Kemudian ditambahkan air laut pada sampel sampai volumenya 5 mL. Setelah itu dilakukan pengamatan terhadap larva udang didalam larutan sampel dengan cara menghitung jumlah larva yang mati setelah 24 jam. Hasil pengamatan dimasukkan ke dalam tabel dan diolah untuk mendapatkan nilai LC_{50}.

3. Hasil dan Diskusi

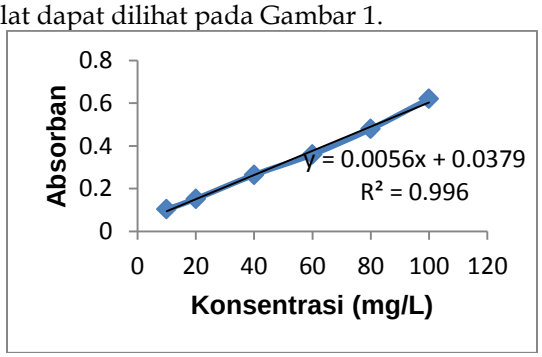
3.1 Uji fitokimia

Uji kualitatif kandungan senyawa metabolit sekunder dari daun puring menunjukkan adanya senyawa flavonoid, fenolik, triterpenoid, steroid dan alkaloid.

Kandungan senyawa yang diperoleh sebagian besar sesuai dengan penelitian uji fitokimia yang telah dilakukan pada daun puring yaitu mengandung flavonoid, fenolik, saponin, tannin, alkaloid dan steroid[9].Perbedaan yang terdapat pada uji fitokimia yang dilakukan dapat disebabkan karena perbedaan lingkungan tempat tumbuhnya tanaman yang sangat berpengaruh terhadap kandungan metabolit sekunder yang dimiliki oleh suatu tanaman dan perbedaan jenis daun tanaman puring yang digunakan.

3.2 Uji Kandungan Fenolik Total

Penentuan kandungan fenolik total dari ekstrak dan fraksi daun puring diperoleh dari persamaan regresi standar asam galat. Kurva standar asam galat dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Kurva standar asam galat penentuan fenolik total

Dari kurva larutan standar di atas, dapat dilihat bahwa kenaikan konsentrasi asam galat sebanding dengan absorban yang diperoleh. Persamaan regresi yang diperoleh dapat digunakan untuk menentukan kandungan fenolik total dari nilai absorban pada ekstrak dan fraksi daun puring. Kandungan fenolik total dari daun puring dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Kandungan fenolik total dari ekstrak dan fraksi daun puring

Sampel Uji	TFC (mg GAE/ mg ekstrak)
Ekstrak etanol	0,264
Fraksi etil asetat	0,298
Fraksi n-heksana	0,144
Fraksi air	0,378

Dari Tabel 1 dapat dilihat bahwa fraksi air memiliki kadar fenolik total lebih banyak dibandingkan dengan ekstrak etanol, fraksi etil asetat dan fraksi n-heksana. Hal ini disebabkan karena kecenderungan air untuk menarik senyawa yang lebih polar seperti flavonoid dan fenolik sesuai dengan hasil uji fitokimia yang telah dilakukan, sehingga semakin banyak ion fenolat yang terbentuk untuk mereduksi fosfomolibdat-fosfotungstat membentuk kompleks molybdenum-tungsten yang mengakibatkan warna biru yang terbentuk semakin pekat dan absorbansi yang terukur juga semakin besar [10].

3.3 Uji Aktivitas Antioksidan pada Ekstrak dan Fraksi Daun Puring

Ekstrak dan fraksi daun puring diuji dengan menggunakan variasi konsentrasi untuk melihat penghambatan (inhibisi) terhadap radikal bebas pada DPPH.

Nilai konsentrasi inhibisi (IC_{50}) masing-masing ekstrak daun puring dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil uji aktivitas pada ekstrak, fraksi daun puring, dan asam askorbat

Sampel uji	IC_{50} (mg/L)	Aktivitas antioksidan
Ekstrak etanol	245,94	Sedang
Fraksi air	16,46	Kuat
Fraksi etil asetat	23,80	Kuat
Fraksi n-heksana	536,15	Tidak aktif
Asam askorbat	6,27	Kuat

Dari Tabel 2 dapat dilihat bahwa asam askorbat memiliki nilai IC_{50} yang paling kecil dan tergolong sangat aktif antioksidan sehingga dapat dibandingkan dengan sampel yang digunakan. Dari data tersebut fraksi air memiliki nilai IC_{50} lebih kecil dan memiliki aktivitas antioksidan yang paling kuat daripada ekstrak dan fraksi lainnya. Hal ini disebabkan karena fraksi air memiliki kepolaran yang lebih besar daripada pelarut n-heksana dan etil asetat sehingga lebih banyak menarik senyawa flavonoid dan juga fenolik, dimana karakteristik senyawa yang terkandung pada daun puring adalah senyawa fenolik dan flavonoid yang cenderung bersifat polar sehingga kelarutannya terhadap fraksi air cenderung tinggi [11]. Senyawa flavonoid dan fenolik merupakan senyawa yang diketahui memiliki aktivitas antioksidan yang baik.

Selain itu kadar fenolik total pada ekstrak atau fraksi erat hubungannya dengan akivitas antioksidan, semakin besar kadar fenolik dari suatu ekstrak atau fraksi maka aktivitas antioksidannya juga semakin besar [12]. Hal ini disebabkan karena semakin banyak senyawa fenolik pada suatu ekstrak atau fraksi, maka semakin banyak juga atom hidrogen yang dapat disumbangkan kepada radikal bebas DPPH sehingga menjadi stabil. Pada penelitian ini fraksi air memiliki kandungan fenolik paling banyak dari ekstrak atau fraksi lainnya, sehingga aktivitas antioksidannya juga semakin baik. Perbedaan kemampuan antioksidasi terhadap radikal bebas DPPH disebabkan karena kemampuan setiap senyawa untuk mentransfer atom hidrogen juga berbeda [13].

3.4 Uji Toksisitas dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)

Ekstrak dan hasil fraksinasi diuji menggunakan larva *Artemia salina* dengan menghitung jumlah kematian larva yang dikonversikan ke dalam data nilai probit.
Hasil uji toksisitas pada ekstrak dan fraksi dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil uji toksisitas pada ekstrak dan fraksi daun puring

Sampel uji	LC_{50}(mg/L)	Tingkat toksisitas
Ekstrak etanol	79,43	Toksik
Fraksi air	512,86	Toksik
Fraksi etil asetat	169,82	Toksik
Fraksi n-heksana	31,62	Toksik

Hasil uji toksisitas ekstrak dan fraksi daun puring memperlihatkan bahwa semakin besar nilai konsentrasi ekstrak, maka mortalitas *Artemia salina* juga semakin besar. Namun ada pada beberapa konsentrasi yang memiliki mortalitas yang sama. Mortalitas yang terjadi disebabkan karena adanya pengaruh sifat toksik dari ekstrak yang digunakan [14].

Dari data yang diperoleh fraksi n-heksana memiliki nilai LC_{50} yang lebih kecil, yang berarti bahwa n-heksana lebih bersifat toksik dari ekstrak dan fraksi lainnya karena memiliki mortalitas yang tinggi terhadap larva *Artemia salina*. Hal ini menunjukkan bahwa pelarut n-heksana mampu mengekstrak senyawa metabolit sekunder dari daun puring yang memiliki daya toksisitas tinggi, seperti triterpenoid dan steroid yang bersifat toksik terhadap larva *Artemia salina*. Selain itu, berdasarkan penelitian lain dilaporkan bahwa senyawa non polar yang terlarut memiliki ukuran yang lebih kecil sehingga lebih mudah masuk ke dalam membran sel larva *Artemia salina* melalui proses difusi dan mengakibatkan sel mengalami kerusakan atau cepat mati. Sedangkan senyawa semi polar atau polar tidak mudah terdifusi melalui membran sel kecuali dengan bantuan protein pembawa *(carrier)*, hal ini

mengakibatkan ketoksikan senyawa lebih rendah daya rusaknya terhadap larva sehingga sedikit larva yang mati [14]. Efek kerusakan metabolisme yang ditimbulkan terjadi secara cepat dan dapat dideteksi dalam waktu 24 jam, hingga menyebabkan kematian 50% kematian pada larva *Artemia salina* [15].

Dari nilai LC_{50} yang diperoleh ekstrak etanol, fraksi etil asetat, fraksi n-heksana dan fraksi air bersifat toksik karena nilai LC_{50} nya kecil dari 1000 mg/L. Hal ini merupakan indikasi awal dari efek farmakologi yang terkandung pada daun puring yang dapat digunakan sebagai obat antikanker.

4. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan terhadap daun puring dapat disimpulkan bahwa daun puring memiliki kandungan metabolit sekunder seperti flavonoid, fenolik, triterpenoid, steroid dan alkaloid. Kandungan fenolik total paling banyak terdapat pada fraksi air yaitu 0,378 mg GAE/mg ekstrak. Aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode DPPH menunjukkan bahwa fraksi air memiliki aktivitas antioksidan paling kuat daripada ekstrak atau fraksi lainnya dengan nilai IC_{50}16,46 mg/L. Kandungan fenolik total dan aktivitas antioksidan erat hubungannya, semakin besar kandungan fenolik total dari ekstrak dan fraksi maka aktivitas antioksidannya juga semakin besar. Aktivitas toksisitas dari ekstrak etanol, fraksi etil asetat, fraksi n-heksana dan fraksi air menunjukkan bahwa ekstrak atau fraksi tersebut memiliki aktivitas toksisitas karena nilai LC_{50} yang diperoleh kecil dari 1000 mg/L.

5. Ucapan Terimakasih

Terimakasih penulis ucapkan kepada semua pihak yang telah membantu dalam menyelesaikan penelitian ini.

Referensi

[1] Nosiani, T.: Pengaruh Media Tanam Terhadap Pertumbuhan Puring (*Codiaeum variegatum*). *Jurnal Pena Sains* 2015, 2, 2.ISSN : 2407- 2311.

[2] Widyaningsih, R.: Keanekaragaman Morfologi Puring *(Cadiaeum variegatum* (L) Blume). Skripsi Program Studi Biologi.Institut Pertanian Bogor, 2015.

[3] Sari, A. N.: Antioksidan Alternatif Untuk Menangkal Bahaya Radikal Bebas Pada Kulit. *Journal of Islamic Science and Technology* 2015, 1, 1.

[4] Marliana, S.D.; Suryanti, V.; dan Suyono.: Skrinng Fitokimia dan Analisi Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam *(Sechium edule Jacq. Swartz.)*dalam Ekstrak Etanol. *Biofarmasi* 2005, 3, 1 : 26-31.

[5] Sangi, M.; Runtuwene M. R. J.; Simbala H. E. I.; dan Makang V. M. A.: Anlisis Fitokimia Tumbuhan Obat di Kabupaten Minahasa Utara. *Chem. Prog* 2008, 1, 1, 47-53.

[6] Alfian, R.; Susanti, H.: Penetapan Kadar Fenolik Total Eksrak Metanol Kelopak Bunga Rosella Merah *(Hibicus sabdariffa* Linn)dengan Variasi Tempat Tumbuh secara Spektrofotometri. *Jurnal Ilmiah Kefarmasian* 2012.1, 2, 73-80.

[7] Kwon, Y.S.; Kim, C.M.: Antioxidant Constituent from the Stem of *Sorghum bicolor, Arch. Pharm. Res* 2003,26, 7, 535-539.

[8] Meyer, B.N.; Ferrigni, N. R.; Putnam, J. E.; Jacobsen, L. B.; Nochols, D. E.; McLaughlin, J. L.: Brine Shrimp : a Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents. *Journal of Medicinal Plant Research,* 1982, 45, 31-34.

[9] Grace S. B.: Meiske S. S.: Harry, S. J.: Koleangan. Analisis Senyawa Metabolit Sekunder dan Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Batang Tanaman Patah Tulang (Euphorbia Tirucalli L.) dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT).*Jurnal Ilmiah Sains* 2014, 14, 2.

[10] Wijayanti, M. N.: Uji Aktivitas Antioksidan dan Penetapan Kadar Fenolik Total Ekstrak Etanol Buah Bumi *(Antidesma bunius* (L.) Spreng*)* dengan Metode *2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl* (DPPH)dan Metode *Folin-Ciocalteu.* Skripsi, Fakultas Farmasi Universitas Dharma Yogyakarta, 2016.

[11] Setiawan, N. C.; Aninda Febrianti. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol dan Fraksi-fraksi Umbi *(Eleutherine palmifolia* (L.)Merrdengan Metode DPPH.*JCPS* 2017, 1, 1.

[12] Alothman, M.; Bhat, K.; dan Karim, A.A.: Antioxidant Capacity and Phenolic Content of Selected Tropical Fruits from Malaysia, Extracted with different solvents. *Food Chemistry* 2009, 115, 785-788.

[13] Nakiboglu, M.; Urek, R.O.; Kayali, H.A.; dan Tarhan, L.: Antioxidant Capacities of *Endemic Sideritis sipylea* and *Origunum sipyleum* from Turkey. *Food Chemistry* 2007, 104, 530-635.

[14] Diana, P.; Mukti K.; Delianis Pringgenies, Ocky Karna Radjasa. Uji Fitokimia dan Toksisitas Ekstrak Kasar Gastropoda *(Telescopium telescopium)* terhadap Larva *Artemia salina*. *Journal of Marine Research* 2012, 1, 2, 58-66.

[15] Ningdyah, A. W.; Andi H.; Afghani, J.: Uji Toksisitas dengan Metode BSLT *(Brine Shrimp Lethality Test)* Terhadap Hasil Fraksinasi Ekstrak Kulit Buah Tampoi *(Baccaurea macrocarpa)*. *JKK*2015, 4,1, 75-83.

PENENTUAN KANDUNGAN FENOLIK TOTAL, UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN, AKTIVITAS ANTIMIKROBA DAN SITOTOKSIK DARI FRAKSI METANOL DAUN MIANA (*Plectranthus Scutellarioides* (L.) R. Br)

Suryati, Bustanul Arifin, Wize Adriani*

Laboratorium Kimia Organik Bahan Alam, Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Andalas, Kampus Limau Manis, Padang, 25163 Indonesia.
*E-mail: wizeadriani1049@gmail.com

Abstrak: Tumbuhan miana (*Plectranthus scutellarioides* (L.) R. Br) adalah satu tumbuhan hias yang tergolong kedalam famili *Lamiaceae*. Daun tumbuhan ini banyak digunakan sebagai obat tradisional seperti mengobati asma, *bronchitis*, batuk, melancarkan haid, bisul, diare, cacingan, wasir, dan kencing manis. Pada penelitian ini telah dilakukan penentuan kandungan fenolik total, uji aktivitas antioksidan, aktivitas antimikroba, dan sitotoksik dari fraksi metanol daun miana. Ekstraksi daun miana dilakukan dengan metode maserasi secara bertahap menggunakan pelarut heksana, etil asetat dan metanol. Pada penelitian ini penentuan kandungan fenolik total dilakukan dengan metode *Folin Ciocalteu*, uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH (*1,1 diphenyl-2-picrylhydrazyl*), aktivitas antimikroba (antibakteri dan antijamur) dilakukan dengan metode difusi cakram melalui penentuan zona bening terhadap bakteri *Escherichia coli* bakteri *Staphylococcus aureus* serta jamur *Candida albicans.* Uji sitotoksik dilakukan dengan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*). Kandungan fenolik total fraksi metanol diperoleh 3,03 mg/L, dan menunjukkan aktivitas antioksidan yang sangat kuat dengan nilai IC_{50} yaitu 11,254 mg/L. Hasil uji aktivitas antimikroba terhadap bakteri *Escherichia coli*, bakteri *Staphylococcus aureus* serta jamur *Candida albicans* menunjukkan nilai zona bening masing-masing (1,6 mm), (1,8 mm), dan (1,1 mm). Fraksi metanol daun miana tidak menunjukkan aktivitas sitotoksik.

Kata Kunci: Tumbuhan Miana, (*Plectranthus scutellarioides* (L.) R. Br), Total Fenolik, Antioksidan, Antimikroba dan Aktivitas Sitotoksik.

I. Pendahuluan

Indonesia memiliki keanekaragaman tumbuhan yang tersebar terutama di pulau besar yaitu Sumatera, Jawa, Kalimantan dan Sulawesi. Tumbuhan tidak hanya dimanfaatkan sebagai bahan pangan, tanaman hias tetapi juga dapat digunakan sebagai tumbuhan obat. Senyawa kimia alami yang terdapat dalam tumbuhan berupa senyawa metabolit primer dan metabolit sekunder yang diperoleh dari proses metabolisme. Keberadaan senyawa metabolit sekunder tergantung pada jenis tumbuhan. Hal inilah yang menyebabkan tumbuhan telah banyak digunakan sebagai obat-obatan sejak ribuan tahun yang lalu[1].

Salah satu tumbuhan obat tradisional yang banyak digunakan adalah daun miana (*Plectranthus scutellarioides* (L.) R. Br)[2]. Secara tradisional tumbuhan ini digunakan sebagai obat asma, *bronchitis*, batuk, melancarkan siklus menstruasi, menetralisir racun, penambah nafsu makan, mempercepat pematangan bisul, diare, cacingan, wasir, dan kencing manis[3].

Beberapa senyawa kimia yang telah dilaporkan dari family *Lamiaceae* yaitu minyak atsiri, tannin, saponin, dan asam organik[4]. Pada genus *Plectranthus* dilaporkan terkandung senyawa kimia yaitu minyak atsiri, flavonoid, dan turunan terpen[5]. Bagian daun tumbuhan miana mengandung minyak atsiri, senyawa fenolik, tannin, lemak, alkaloid, dan fitosterol.

Berdasarkan uraian diatas maka, pada penelitian ini akan dilakukan penentuan fenolik total dengan metode *Folin Ciocalteu*, uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH (*1,1 diphenyl-2-picrylhydrazyl*), aktivitas antimikroba (antibakteri dan antijamur) dilakukan dengan metode difusi cakram melalui penentuan zona bening

terhadap bakteri *Escherichia coli* bakteri *Staphylococcus aureus* serta jamur *Candida albicans*. Uji sitotoksik dilakukan dengan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*).

2. Metodologi Penelitian

2.1 Alat

Peralatan yang digunakan diantaranya yaitu maserator (botol gelap), plat KLT, alat distilasi, neraca analitik dan teknis, grinder, oven, *rotary evaporator* (Heidolph Laborota 4000), lampu *UV* (λ 254 dan 365 nm) dan spektrofotometer UV-VIS. Pengerjaan uji aktivitas antimikroba digunakan *magnetic stirer* (Corning PC-42000), *magnetic bar,* inkubator (Gallenkamp), *test tube, autoclave*, *petridish,* mikropipet (Nichipet Ex), *laminar air flow* (Aneka Lab H.S 079S).

2.2 Bahan

Bahan kimia yang digunakan adalah pelarut teknis yang telah didistilasi yaitu heksana, etil asetat, dan metanol, serta bahan uji fitokimia seperti pereaksi Mayer untuk identifikasi alkaloid, pereaksi *Lieberman Burchard* (anhidrida asetat 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, ammonia, natrium hidroksida untuk identifikasi kumarin. Untuk uji aktivitas antibakteri digunakan bakteri Gram positif (*S. aureus)* dan bakteri Gram negatif (*E. coli), amoxicillin* 78%, metanol (distilat), media *Mueller-Hinton* agar, media *Nutrient Agar*, dan alkohol 70%. Untuk uji aktivitas antioksidan dan kandungan total fenolik digunakan reagen *folin-ciocalteu*, natrium karbonat, asam galat, asam askorbat, *1,1-diphenyl-2-pikrilhidrazil* (DPPH), akuades. Sedangkan untuk uji aktivitas antijamur digunakan jamur *Candida albicans*, *nystatin* dan NaCl 0,9 %. Dimetilsulfoksida (DMSO) digunakan pada uji aktivitas sitotoksik. Hewan yang digunakan untuk pengujian *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) adalah larva udang *Arthemia salina Leach*.

2.3 Prosedur Penelitian

Penelitian ini dilakukan dalam beberapa tahap, meliputi:

2.3.1 Ekstraksi (maserasi) serbuk kering daun miana (Plectranthus scutellarioides (L.) R. Br)

Sampel daun miana dirajang halus dan dikering anginkan, selanjutnya dihaluskan hingga menjadi bubuk. Sampel bubuk daun miana dimaserasi bertahap dengan pelarut heksana, etil asetat dan metanol. Fraksi dari metanol dipekatkan dengan *rotary evaporator* dan dilakukan uji metabolit sekunder, uji kandungan fenolik total, aktivitas antioksidan, antimikroba, dan sitotoksik.

2.3.2 Uji metabolit sekunder fraksi metanol daun miana (Plectranthus scutellarioides (L.) R. Br)

Fraksi metanol dimasukkan kedalam tabung reaksi dan dilarutkan dengan metanol. Setelah itu ditambahkan kloroform dan akuades dengan perbandingan 1:1 dan diaduk, lalu dibiarkan hingga terbentuk dua lapisan yaitu lapisan kloroform dan lapisan akuades. Lapisan atas (akuades) digunakan untuk pemeriksaan flavonoid dengan metode *shinoda test*, uji saponin dengan penambahan asam klorida dan uji fenolik dengan penambahan besi (III) klorida. Lapisan bawah (kloroform) digunakan untuk pemeriksaan senyawa triterpenoid dan steroid dengan metode *Liebermann-Burchard*. Uji kandungan alkaloid dilakukan dengan menggunakan pereaksi Mayer dan uji kumarin dengan metode kromatografi lapis tipis dan NaOH 1% sebagai penampak noda.

2.3.3 Uji kandungan fenolik total

Penentuan kandungan fenolik total dilakukan dengan metode *Folin-Ciocalteu* menggunakan asam galat dengan konsentrasi 1000 mg/L yang dilarutkan dengan pelarut metanol. Larutan induk konsentrasi 1000 mg/L diencerkan hingga didapatkan konsentrasi 100 mg/L. Lalu, dibuat variasi konsentrasi larutan standar asam galat yaitu (10, 20, 40, 60, dan 80) mg/L. Diambil 0,5 mL larutan asam galat dari tiap variasi konsentrasi, ditambahkan dengan 0,5 mL reagen *Folin-Ciocalteu* dan didiamkan selama 5 menit. Kemudian ditambahkan 1 mL larutan natrium karbonat 20% dan diencerkan dalam labu 10 mL dengan akuades sampai tanda batas. Campuran didiamkan selama dua jam. Kemudian diukur absorban pada panjang gelombang 765 nm. Berdasarkan nilai absorban yang didapatkan, dibuat kurva kalibrasi dan didapatkan persamaan regresi dari larutan standar.

Konsentrasi larutan uji fraksi metanol dibuat 1000 mg/L menggunakan pelarut metanol. Konsentrasi 1000 mg/L diencerkan

hingga diperoleh konsentrasi 100 mg/L. Kemudian larutan induk 100 mg/L diambil sebanyak 0,5 mL dan dimasukkan kedalam labu ukur 10 mL. Ke dalam labu ukur ditambahkan 0,5 mL reagen *Folin-Ciocalteu* dan didiamkan selama 5 menit. Kemudian ditambahkan 1 mL larutan natrium karbonat 20% dan diencerkan dengan akuades sampai tanda batas. Campuran didiamkan selama dua jam. Diukur absorbannya pada panjang gelombang 765 nm. Kandungan total fenolik larutan uji ditentukan dari persamaan regresi kurva larutan standar. Kandungan total fenolik dinyatakan dalam *Gallic Acid Equivalent* (GAE).

2.3.4 Uji aktivitas antioksidan

Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan metode DPPH (*1,1 diphenyl-2-picrylhydrazyl*).

Larutan DPPH dibuat dengan cara ditimbang 4 mg DPPH kemudian dilarutkan dengan metanol dalam labu ukur 100 mL hingga tanda batas dan didapatkan larutan DPPH 0,1 mM.

Konsentrasi larutan induk asam askorbat (kontrol positif) dibuat 1000 mg/L dan diencerkan hingga diperoleh konsentrasi 10 mg/L. Lalu, dibuat variasi konsentrasi asam askorbat yaitu (0,5; 1; 1,5; 2; dan 2,5) mg/L. Semua variasi tersebut diambil 3 mL dan di tambahkan dengan 1 mL larutan DPPH 0,1 mM ke dalam vial dan didiamkan selama 30 menit. Larutan dimasukkan kedalam kuvet dan diukur absorban menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 517 nm.

Konsentrasi larutan induk fraksi metanol dibuat 1000 mg/L dan diencerkan hingga 100 mg/L. Lalu, dibuat variasi konsentrasi larutan uji (5, 10, 15, 20 dan 25) mg/L. Masing-masing variasi konsentrasi tersebut dimasukkan ke dalam vial sebanyak 3 mL, tambahkan dengan 1 mL DPPH 0,1 mM. Didiamkan selama 30 menit. Larutan dimasukkan kedalam kuvet dan di ukur absorban dari masing-masing konsentrasi l Dilakukan pengerjaan di tempat yang gelap dan tanpa cahaya matahari.arutan uji pada panjang gelombang 517 nm.

2.3.5 Uji aktivitas antibakteri

Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan menggunakan metode difusi cakram dan menggunakan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* sebagai bakteri uji. Sebelum digunakan, bakteri terlebih dahulu diremajakan pada media nutrient agar miring yang dibuat dengan melarutkan 2 gram media NA dengan akuades sampai volumenya 100 mL, kemudian dipanaskan dan diaduk sampai larut sempurna.

Uji aktivitas antibakteri fraksi metanol menggunakan larutan induk 1000 mg/L. Larutan uji dibuat dengan beberapa variasi konsentrasi yaitu 1000; 500; 250; 125; 62,5; dan 31,25 mg/L melalui pengenceran bertingkat.

Pengujian antibakteri dilakukan dengan menggunakan media Mueller-Hinton Agar (MHA) yang dibuat dengan melarutkan 7,2 gram MHA dengan akuades sampai volumenya 200 mL, kemudian dipanaskan dan diaduk sampai larut sempurna. Media MHA yang telah dibuat disterilkan dalam autoklaf. Kemudian media yang telah steril dituangkan kedalam masing-masing *petri dish* dan dibiarkan memadat pada suhu kamar didalam laminar air flow. Selanjutnya, ditetesi 200 µL suspensi bakteri uji dan diratakan dengan menggunakan *cotton bud*, kemudian didiamkan hingga kering selama 15 menit.

Kertas cakram steril yang telah dibasahi dengan larutan uji diletakan pada media tersebut dan diinkubasi pada suhu ruang selama 24 jam. Percobaan ini dilakukan duplo, sebagai kontrol positif digunakan *amoxicillin* 31,25 mg/L dan kontrol negatif digunakan adalah metanol distilat.

Adanya zona bening disekitar cakram menunjukkan adanya daerah hambatan pertumbuhan bakteri. Diameter zona bening diukur secara horizontal dan vertikal.

2.3.6 Uji aktivitas antijamur

Uji aktivitas antijamur dilakukan dengan menggunakan metode difusi cakram dan menggunakan jamur *Candida albicans* sebagai jamur uji. Sebelum digunakan, jamur terlebih dahulu diremajakan pada media *Potato Dextrose Agar* (PDA) miring yang dibuat dengan melarutkan 11,7 gram media PDA dengan akuades sampai volumenya 300 mL, kemudian dipanaskan dan diaduk sampai larut sempurna.

Uji aktivitas antijamur fraksi metanol menggunakan larutan induk 1000 mg/L. Larutan uji dibuat dengan beberapa variasi konsentrasi yaitu 1000; 500; 250; 125; 62,5; dan 31,25 mg/L melalui pengenceran bertingkat.

Pengujian aktivitas antijamur dilakukan dengan metode difusi cakram. Media agar 20 mL dituangkan ke dalam *petri dish* dan dibiarkan memadat pada suhu kamar didalam laminar air flow. Selanjutnya, ditetesi 200 µL suspensi jamur uji dan diratakan dengan menggunakan *cotton bud*, kemudian didiamkan hingga kering selama 15 menit.

Kertas cakram steril yang telah dibasahi dengan larutan uji diletakan pada media tersebut dan diinkubasi pada suhu ruang selama 24 jam. Percobaan ini dilakukan duplo, sebagai kontrol positif digunakan *nystatin* 31,25 mg/L dan kontrol negatif digunakan adalah metanol distilat.

Adanya zona bening disekitar cakram menunjukkan adanya daerah hambatan pertumbuhan jamur. Diameter zona bening diukur secara horizontal dan vertikal dengan menggunakan penggaris.

2.3.7 Uji Aktivitas Sitotoksik

Uji aktivitas sitotoksik dilakukan dengan metode BSLT (*Brine Shimp Lethal Test*) yang menggunakan larva udang *Artemia salina* sebagai hewan uji. Larva udang dimasukkan kedalam wadah pembiakkan pada bagian gelap yang telah berisi air laut steril dan dibiarkan selama 48 jam hingga terbentuk larva dan akan berpindah kebagian yang terang.

Uji aktivitas sitotoksik dilakukan terhadap fraksi metanol dengan konsentrasi larutan induk 4000 mg/L, kemudian dilakukan pengenceran bertingkat dengan variasi konsentrasi 4000; 2000; 1000; 500; dan 250 mg/L sebagai larutan uji. Masing-masing larutan uji diambil sebanyak 5 mL dan dimasukkan kedalam botol vial dan diuapkan pelarutnya. Setelah menguap, ditambahkan 50 µL DMSO dan 3 mL air laut kemasing-masing botol vial. Sebanyak 10 ekor larva udang dimasukkan kedalam larutan uji dan volume air laut dicukupkan hingga 5 mL. Pengerjaan yang sama juga dilakukan untuk larutan kontrol, kemudian jumlah larva yang mati dihitung setiap 4 jam dalam rentang waktu 24 jam. Jumlah udang yang mati pada masing-masing konsentrasi larutan uji digunakan untuk menghitung nilai LC_{50} (*Lethal Concentration* 50) melalui analisis probit dan persamaan regresi. Sifat sitotoksik dari masing-masing larutan uji diketahui melalui nilai LC_{50}. Semakin kecil nilai $LC_{50,}$ maka akan semakin bersifat toksik, begitu sebaliknya.

3. Hasil dan Diskusi

3.1 Hasil Ekstraksi (maserasi) serbuk kering daun miana

Hasil ekstraksi terhadap 2800 gram bubuk daun miana kering menghasilkan 157,556 gram fraksi metanol dengan kadar air 91,70%, artinya tumbuhan ini memiliki kadar air yang sangat tinggi.

3.2 Hasil uji metabolit sekunder sampel dan fraksi metanol daun miana

Tabel 1. Hasil uji metabolit sekunder daun miana dan fraksi metanol daun miana

No	Senyawa Metabolit Sekunder	Pereaksi	Hasil	
			Daun Miana	Fraksi Metanol
1	Flavonoid	Shinoda Test	+	+
2	Fenolik	$FeCl_3$	+	+
3	Saponin	H_2O / HCl pekat	+	-
4	Triterpenoid	LB	+	-
5	Steroid	LB	+	-
6	Alkaloid	Mayer	+	-
7	Kumarin	NaOH 1 %	-	-

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

Berdasarkan data Tabel 1. terdapat perbedaan kandungan metabolit sekunder daun miana dengan fraksi metanol hal ini dipengaruhi oleh sifat kepolaran pelarut.

3.3 Hasil uji kandungan fenolik total

Hasil uji kandungan fenolik total fraksi metanol daun miana bertujuan untuk mengetahui jumlah fenolik yang terdapat dalam fraksi metanol dengan metode *Follin-Ciocalteu*. Pengukuran senyawa fenolik total dilakukan sebanyak tiga pengulangan untuk keperluan akurasi data. Berdasarkan hasil penelitian ini diperoleh kandungan fenolik total dari fraksi metanol daun miana (*Plectranthus scutellarioides* (L.) R. Br) sebesar 3,03 mgGAE / gr fraksi, artinya

dalam setiap gram fraksi metanol daun miana (*Plectranthus scutellarioides* (L.) R. Br) terdapat fenolik yang setara dengan 3,03 mg asam galat. Senyawa fenolik ini merupakan hasil metabolit sekunder yang berperan aktif sebagai antioksidan.

3.4 Hasil uji aktivitas antioksidan

Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan metode DPPH. Hasil uji aktivitas antioksidan dapat dilihat pada tabel pengamatan dibawah ini.

Tabel 3. Hasil uji aktivtas antioksidan

	Konsentrasi (mg/L)	**Absorban**	**% inhibisi**	***IC*$_{50}$ (mg/L)**
Kontrol Negatif (DPPH)	-	0,191	-	-
Fraksi Metanol	5	0,148	22,513	11,254
	10	0,096	49,738	
	15	0,060	68,586	
	20	0,031	83,770	
	25	0,029	84,817	
Kontrol Positif (Asam Askorbat)	0,5	0,157	17,801	1,239
	1,0	0,106	44,503	
	1,5	0,072	62,304	
	2,0	0,038	80,105	
	2,5	0,010	94,764	

Besarnya aktivitas antioksidan ditandai dengan nilai IC_{50}, yaitu konsentrasi larutan fraksi yang dibutuhkan untuk menghambat 50% radikal bebas DPPH. Uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH terhadap fraksi metanol dengan variasi konsentrasi (5, 10, 15, 20 dan 25) mg/L. diperoleh nilai IC_{50} sebesar 11,254 mg/L hal ini menunjukkan bahwa fraksi metanol memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat. Sesuai dengan rentang nilai yang dikemukakan oleh *Erwin et,al* 2013, bahwa senyawa dengan nilai IC_{50} kurang dari 50 mg/L memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat, nilai IC_{50} antara 50 mg/L - 100 mg/L memiliki aktivitas antioksidan yang kuat, nilai IC_{50} antara 101 mg/L - 150 mg/L memiliki aktivitas antioksidan yang sedang dan nilai IC_{50} besar dari 150 mg/L memiliki aktivitas antioksidan yang lemah[6].

3.5 Hasil uji aktivitas antibakteri

Uji aktivitas antibakteri fraksi metanol daun tumbuhan miana dilakukan dengan menggunakan metode difusi cakram. Hasil uji aktivitas antibakteri dapat dilihat pada tabel dibawah ini

Tabel 4. Hasi uji aktivitas antibakteri

	Konsentrasi (mg/L)	**Diameter Zona Bening (mm)**	
		E. coli	***S. aureus***
Fraksi Metanol	1000	1,6	1,8
	500	1,3	1,6
	250	0,8	1,3
	125	0,4	0,8
	62,5	0,2	0,4
	31,25	0,0	0,1
Kontrol (+) *Amoxicillin*	31,25	3,0	4,0
Kontrol (-) Metanol	-	0,0	0,0

Zona bening maksimal fraksi metanol terhadap kedua bakteri adalah pada konsentrasi 1000 mg/L. Pada konsentrasi 1000 mg/L zona bening fraksi metanol terhadap bakteri *S.aureus* adalah 1,8 mm sedangkan zona bening fraksi metanol terhadap bakteri *E.coli* adalah 1,6 mm. Dari data ini terlihat bahwa zona bening terhadap bakteri gram positif (*S. aureus*) lebih besar dibandingkan zona bening terhadap bakteri gram negatif (*E.coli*). Perbedaan ini terjadi karena bakteri gram positif dan bakteri gram negatif memiliki komposisi kimia dinding sel yang berbeda.

Berdasarkan nilai zona bening yang terbentuk dapat diketahui bahwa fraksi metanol daun miana memiliki aktvitas yang lemah sebagai antibakteri terhadap bakteri (*E.coli* dan *S. aureus*). Hal ini sesuai dengan ketentuan Kusumawati *et al.* (2016), bahwa zona bening kurang dari 5 mm memiliki potensi antibakteri yang lemah, antara 5 – 10 mm berpotensi sedang, antara 10 – 20 mm berpotensi kuat dan zona bening lebih dari 20 mm berpotensi antibakteri yang sangat kuat[7].

3.6 Hasil uji aktivitas antijamur

Uji aktivitas antijamur dilakukan dengan menggunakan metode difusi cakram. Hasil uji aktivitas antijamur dapat dilihat pada tabel pengamatan dibawah ini.

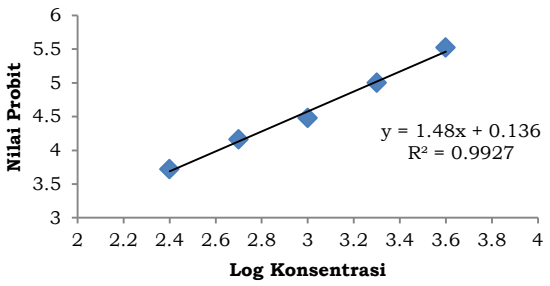
Tabel 5. Hasil uji aktivitas antijamur

	Konsentrasi (mg/L)	Diameter Zona Bening (mm)
		C. albicans
Fraksi Metanol	1000	1,1
	500	0,7
	250	0,3
	125	0,1
	62,5	0,0
	31,25	0,0
Kontrol (-) Metanol	-	0,0
Kontrol (+) *Nystatin*	31,25	7,0

Hasil pengukuran zona bening menunjukkan bahwa zona bening tertinggi terdapat pada konsentrasi 1000 mg/L, dengan nilai zona beningnya sebesar 1,1 mm. Berdasarkan hal tersebut, dapat diketahui bahwa fraksi metanol memiliki aktivitas yang lemah sebagai antijamur terhadap jamur (*Candida albicans*). Hal ini sesuai dengan ketentuan Rosiska *et al.* (2012), bahwa zona bening kurang dari 5 mm memiliki potensi antijamur yang lemah, antara 5 – 10 mm berpotensi sedang, antara 10 – 20 mm berpotensi kuat dan zona bening 20 mm atau lebih berpotensi antijamur yang sangat kuat[8]. Jika dibandingkan dengan kontrol positif *nystatin*, kemampuan fraksi metanol sebagai antijamur jauh lebih rendah.

3.7. Hasil uji sitotoksik

Hasil pengujian aktivitas sitotoksik fraksi metanol daun miana menunjukkan bahwa konsentrasi larutan sebanding dengan jumlah larva udang yang mati. Hal ini diperkuat oleh data pada kurva regresi penentuan nilai LC_{50} dibawah ini.



Gambar 1. Kurva regresi penentuan nilai LC_{50}

Dari kurva aktivitas sitotoksik yang didapatkan, diperoleh nilai LC_{50} fraksi metanol yaitu sebesar 1931,96 mg/L (R^2 = 0,9927). Berdasarkan nilai LC_{50} tersebut, dapat dikatakan bahwa fraksi metanol dari daun miana tidak bersifat toksik. Hal ini sesuai dengan ketentuan Novalien *et al.* (2015), bahwa nilai $LC_{50} \leq 30$ mg/L menyatakan fraksi bersifat sangat toksik, 31 mg/L $\leq LC_{50} \leq$ 1000 mg/L menyatakan fraksi bersifat toksik, dan nilai $LC_{50} \geq 1000$ mg/L menyatakan bahwa fraksi bersifat tidak toksik[9]. Semakin kecil nilai LC_{50} dari suatu sampel maka semakin tinggi toksisitasnya.

4. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam daun miana yaitu flavonoid, fenolik, saponin, steroid, triterpenoid dan alkaloid namun fraksi metanol mengandung senyawa fenolik dan flavonoid. Nilai kandungan total fenolik dari fraksi metanol adalah 3,03 mg/L yang menunjukkan aktivitas antioksidan sangat kuat dengan nilai IC_{50} 11,254 mg/L. Fraksi metanol memiliki aktivitas antimikroba (antibakteri dan antijamur) yang lemah terhadap bakteri (*Staphylococcus aureus, Escherichia coli*) dan jamur (*Candida albicans*). Fraksi metanol tidak bersifat toksik dengan nilai LC_{50} 1931,96 mg/L.

5. Ucapan terima kasih

Penulis menyampaikan terima kasih kepada Dr. Suryati dan Bustanul Arifin M.Si sebagai dosen pembimbing yang telah memberikan pengarahan dan petunjuk dalam menyelesaikan penelitian dan jurnal ilmiah ini. Selanjutnya penulis juga mengucapkan terima kasih kepada rekan-rekan di Laboratorium Kimia Organik Bahan Alam serta analisnya yang telah memberikan bantuan dan fasilitas dalam penyelesaian penelitian dan penulisan jurnal ilmiah ini.

Referensi

[1] Kinho, Julianus. Tumbuhan Obat Tradisional di Sulawesi Utara Jilid II. Balai Penelitian Kehutanan Manado: Sulawesi Utara. 2011

[2] Levita, Jutti. Sumiwi, S.A; Pratiwi, T.I; Ilham, Ekky; Sidiq, SP; Moektiwardoyo, Moelyono.. Pharmacology Activities of *Plectranthus scutellarioides* (L.) R.Br

Leaves Extract on Cyclooxygenase and Xanthine Oxidase Enzymes. *Jurnal of Medical Plants Research*. Universitas Padjadjaran: Bandung. 2016. Vol 10(20), 261-269

[3] Kusumawati, D.E; Pasaribu, F.H; Bintang, M. Aktivitas Antibakteri Isolat Bakteri Endofit Dari Tanaman Miana (*Coleus scutellariodes* [L.] Benth.) Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Institut Pertanian Bogor: Bogor. 2014, 45-50

[4] Handayani, Aisyah. Keanekaragaman *Lamiaceae* berpotensi obat koleksi Taman Tumbuhan Obat Kebun Raya Cibodas, Jawa Barat. *Pros Sem Nas Masy Biodiv Indon*. UPT Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Cibodas, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI); Jawa Barat. 2015. 1324-1327

[5] Brandao, E.M; Brandao, Paulo. H.D; Souza, I.A; Paiva, G.S; Carvalho. M de C; Lacerda, C.M. Antineoplasic Effect of Aqueous Extract of *Plectranthus amboinicus* in Ehrlich Ascites Carcinoma. *Journal of Cancer*. University of Pernanbuco: Brazil. 2013. Vol 4, 573-576

[6] Erwin; Sari, D. Fitria; Chairul, Saleh. Uji Toksisitas Dan Penentuan Aktivitas Antioksidan Dengan Metode DPPH Dari Metabolit Sekunder Fraksi *N*-Heksan, Etil Asetat Dan Metanol-Air Daun Sisik Naga (*Drymoglossum piloselloides* [Linn.] Pr.). Universitas Mulawarman. 2013, ISBN : 978-602-19421-0-9

[7] Kusumawati, Eko; A, Anita; K, Khusnul. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kerehau (*Callicarpa longifolia* Lam) Terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Ilmiah Manuntung*. Universitas Mulawarman Samarinda: Samarinda. 2016, 166-172

[8] L, Rosiska; Ma'ruf, W.F; Dewi, E.N. Aktivitas Antijamur Senyawa Bioaktif Ekstrak *Gelidium latifolium* Terhadap *Candida albicans*. *Jurnal Pengolahan Dan Bioteknologi Hasil Perikanan*. Undip: Semarang. 2012, 1-8

[9] F, Novalien; Erwin.; Syafrizal. Analisis Fitokimia Dan Toksisitas (Brine Shrimp Lethality Test) Ekstrak Serbuk Sari Dari *Trigona Incise*. *Jurnal Kimia Mulawarman*. Universitas Mulawarman: Samarinda. 2015, Vol 13. No 1

VALIDASI METODE DPPH UNTUK PENENTUAN KANDUNGAN ANTIOKSIDAN TOTAL PADA BAYAM, SELEDRI, SAWI HIJAU, SAWI PUTIH DAN DAUN BAWANG DALAM PELARUT METANOL DAN HEKSANA SECARA SPEKTROFOTOMETRI

Yefrida*, Muhamad Ali Anwar, Refilda

Laboratorium Pengukuran, Jurusan Kimia, Fakutas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Andalas, Kampus Limau Manis, 25163, Indonesia
*Email: yefridaanwar@yahoo.com

Abstrak: Validasi metode DPPH untuk penentuan kandungan antioksidan pada sampel bayam, seledri, sawi hijau, sawi putih, dan daun bawang dalam pelarut metanol dan heksana telah dilakukan. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan metode yang tepat pada penentuan kandungan antioksidan total pada sampel yang berguna untuk menetralisir radikal bebas yang menyerang tubuh manusia. Parameter statistik yang digunakan untuk validasi metode adalah: linieritas, limit of detection (LoD), limit of quantification (LoQ), standar deviasi relatif (SDR), dan perolehan kembali *(% recovery)*. Nilai-nilai yang didapatkan, SDR (1,2-2,8) %, linieritas 0,996 mmol/L, LoD 0,0627 mmol/L, LoQ 0,2092 mmol/L, perolehan kembali (91,00-108,5) %. Berdasarkan nilai linieritas, SDR, dan perolehan kembali dapat disimpulkan bahwa metode DPPH valid untuk penentuan kandungan antioksidan dalam sampel bayam, seledri, sawi hijau, sawi putih dan daun bawang. Kandungan antioksidan total pada sampel dengan menggunakan pelarut metanol didapatkan lebih besar dibandingkan dengan pelarut heksana.

Kata kunci: Validasi metode, Metode DPPH, Antioksidan total, Metanol, Heksana

1. Pendahuluan

Makanan yang dikonsumsi oleh manusia di era modern saat ini banyak mengandung bahan-bahan sintetik, yang apabila dikonsumsi secara belebihan akan menimbulkan dampak yang sangat berbahaya bagi tubuh. Semua hal itu tak luput dari adanya radikal bebas, radikal bebas adalah atom atau molekul yang memiliki satu atau lebih elektron tidak berpasangan, elektron-elektron yang tidak berpasangan ini menyebabkan radikal bebas menjadi senyawa yang sangat reaktif terhadap sel-sel tubuh dengan cara mengikat elektron molekul sel. radikal bebas dapat dijumpai pada makanan, beberapa logam (besi dan tembaga), obat, rokok, dll [1]. Radikal bebas dapat di netralisir dan di cegah dengan menggunakan antioksidan. Antioksidan adalah senyawa yang dapat memperlambat atau mencegah terjadingan kerusakan sel dalam tubuh yang disebabkan oleh radikal bebas [2].

Sumber-sumber antioksidan antara lain: sayur-sayuran, buah-buahan, kopi dan teh. sayur-sayuran merupakan tanaman yang banyak mengandung antioksidan nabati [3], dan mempunyai bermacam-macam antioksidan seperti tanin, kalium nitrat, kalsium oksalat, zat besi serta vitamin A, C dan E [4], diantaranya sayur bayam, seledri, sawi hijau, sawi putih dan daun bawang yang dapat menghambat radikal bebas dalam tubuh. Oleh sebab itu, penelitian terhadap kandungan antioksidan dari bahan alami terus menjadi pusat perhatian beberapa tahun belakangan ini [5]. Dalam penentuan kandungan antioksidan kali ini digunakan metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhidrazyl) [6], prinsip metode DPPH adalah penangkapan radikal bebas dalam sel tubuh manusia, dimana ketika larutan DPPH yang berwarna ungu bertemu dengan pendonor elektron maka DPPH akan tereduksi dan warnanya akan memudar [7]. Salah satu metode penentuan kandungan antioksidan yang sering digunakan adalah metode DPPH [8]. Antioksidan dapat rusak disebabkan karena suhu yang sangat tinggi [9]. Antioksidan ideal harus memiliki beberapa syarat yaitu: efektif dalam konsentrasi rendah, cukup larut dalam produkteroksidasi, tidak beracun, tidak berbau, stabil dalam berbagai pH dan bersifat netral [10].

Penelitian ini dilakukan untuk memvalidasi metode DPPH untuk penentuan antioksidan total pada bayam, seledri, sawi hijau, sawi putih dan daun bawang. Parameter yang diuji adalah Liniearitas, Limit of Detection (LoD), Limit of Quantification (LoQ), Standar Deviasi Relatif (SDR), dan persentase perolehan kembali *(% recovery)*. Disamping itu juga dilakukan penentuan kandungan antioksidan dengan menggunakan dua pelarut yaitu metanol dan heksana.

2. Metodologi Penelitian

2.1 Alat

Peralatan yang digunakan adalah botol reagen, corong, erlenmeyer, gelas ukur, gelas piala, pipet ukur, labu ukur, pisau, lakban, botol vial, cawan porselen, desikator, oven GALLEMKANP, Neraca Analitis KERN ALJ 220-4M, Spektrofotometer UV-Vis PD-303 S), kertas saring dan alumunium voil.

2.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah bayam, seledri, sawi hijau, sawi putih dan daun bawang, asam askorbat, metanol p.a, DPPH, metanol distilasi dan heksana distilasi. Sayur-sayuran didapat dibeli di daerah Pasar Baru, Padang.

2.3 Persiapan Sampel

Bayam, seledri, sawi hijau, sawi putih dan daun bawang dibersihkan dan dipotong kecil-kecil. Masing-masing sampel ditimbang sebanyak ± 10 g. Kemudian sampel yang sudah ditimbang dimasukkan kedalam 6 buah botol dan ditambahkan metanol dan heksana sebanyak 50 mL masing-masingnya. Didiamkan selama ± 24 jam. Setelah itu sampel disaring untuk memisahkan filtrat dan ampasnya.

2.4 Prosedur Kerja

a. Penentuan Persentase Kadar

Cawan porselen dioven selama ± 1 jam pada suhu 105^{o} C, kemudian diletakkan dalam desikator selama ± 15 menit dan ditimbang. Perlakuan ini dilakukan berulang kali hingga diperoleh berat konstan. Sampel basah (± 5 g) dimasukkan ke dalam cawan tersebut, kemudian dioven selama ± 1 jam pada suhu 105^{o} C, setelah itu dimasukkan kedalam desikator selama ± 15 menit, kemudian dioven, didesikator lagi dan ditimbang sampai didapatkan berat konstan. Dihitung persentase kadar airnya [11]

b. Pembuatan Kurva Kalibrasi Standar

Sejumlah standar asam askorbat dengan konsentrasi (0,01, 0,02, 0,03 0,04, 0,05) mmol/L dimasukkan kedalam labu ukur 10 mL, ditambahkan metanol sampai tanda batas, masing-masingnya diambil 2 ml standar dimasukkan kedalam botol vial, ditambahkan 0,5 mL DPPH dan diukur absorbannya dengan spektrofotometri UV-VIS dengan Panjang gelombang 517 nm [12].

c. Penentuan Linearitas

Linearitas diperoleh dari kurva kalibrasi dengan memplotkan konsentrasi dengan absorban. Sebagai parameter adanya hubungan liniear digunakan koefisien korelasi pada analisis regresi liniear, Y = ax + b.

d. Penentuan Limit of Detection (LoD) dan Limit of Quantification (LoQ)

Nilai LoD dan LoQ dapat dihitung dengan rumus:

$$Q = \frac{k \times SD}{slope}$$

dimana Q adalah LoQ dan LoD, k adalah konstanta (3 untuk LoD dan 10 untuk LoQ) dan SD adalah simpangan baku residual [12].

e. Penentuan Standar Deviasi Relatif (SDR)

Dipipet 1 mL filtrat dan dimasukkan kedalam labu 25 mL, diencerkan dengan metanol sampai tanda batas, dipipet masing-masing 2 mL kedalam delapan buah botol vial, ditambahkan 0,5 mL DPPH, didiamkan 15 menit, dan diukur nilai absorban dengan menggunakan Spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm [12].

f. Penentuan Persentase Perolehan Kembali

Dipipet 1 mL sampel + standar dan dimasukkan kedalam labu 25 mL, diencerkan dengan metanol sampai tanda batas, dipipet masing-masing 2 mL

kedalam empat buah botol vial, ditambahkan 0,5 ml DPPH, didiamkan 15 menit, dan diukur nilai absorban larutan menggunakan Spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm [12].

g. Penentuan Kandungan Antioksidan Total

Dipipet masing-masing 2 mL standar atau ekstrak sampel kemudian dimasukkan kedalam botol vial yang dilapisi lakban hitam, Lalu ditambahkan dengan 0,5 mL larutan DPPH. Diamkan selama 15 menit dan diukur nilai absorban larutan dengan menggunakan Spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm [13].

3. Hasil dan Diskusi

A. Persentase Kadar Air

Penghitungan persentase kadar air dilakukan pada sampel basah masing-masingnya sebanyak ± 5 g.

Tabel 1. Persentase kadar air dalam sampel

No	Sampel	Kadar Air (%)
1	Bayam	87,55
2	Seledri	85,17
3	Sawi Hijau	89,60
4	Sawi putih	95,40
5	Daun Bawang	92,01

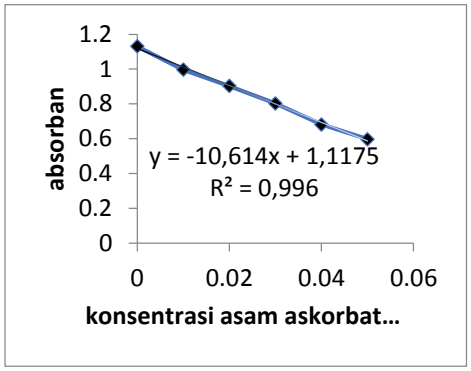
Dari data Tabel 1 diatas dapat dilihat bahwa sawi putih memiliki kadar air tertinggi yaitu sebesar 95,40 % sedangkan seledri memiliki persentase kadar air terkecil yaitu sebesar 85,17 %.

Pada penghitungan kadar air ini digunakan suhu yang cukup tinggi yaitu 105^0C, bertujuan untuk menguapkan kandungan air baik dalam sampel maupun kandungan air yang terdapat didalam cawan. Penggunaan suhu 105^0C karena suhu tersebut merupakan daerah suhu air untuk menguap. Penelitian ini dilakukan secara triplo sehingga didapatkan hasil rata-rata persentase kadar air. Pemanasan sampel dilakukan berulang-ulang sampai didapatkan berat konstan. Berat konstan menunjukkan bahwa sudah tidak ada lagi molekul air yang terdapat dalam sampel, sehingga tidak ada lagi yang diuapkan pada saat pemanasan yang membuat berat sampel tetap konstan.

Pengukuran penentuan persentase kadar air bertujuan untuk mendapatkan berat kering dari sampel. Berat kering ini berfungsi untuk mendapatkan berat sampel murni tanpa adanya tambahan berat air karena berat air yang terkandung didalam sampel akan berbeda tergantung pada kondisi lingkungan, pemetikan, dan lain-lain, sehingga berat murninya didapatkan dengan cara menghilangkan berat air yang terdapat didalam sayuran tersebut. Nilai berat kering ini digunakan dalam perhitungan kandungan antioksidan total.

B. Pembuatan Kurva Kalibrasi Standar

Untuk menentukan konsentrasi pada masing-masing sampel, maka dihitung dengan membuat kurva kalibrasi dengan larutan standar asam askorbat dan didapatkan persamaan regresi y= ax+ b



Gambar 1 Kurva kalibrasi standar asam askorbat dalam pelarut metanol.

Kurva kalibrasi dibuat dengan cara memvariasikan konsentrasi larutan standar asam askorbat sebanyak 5 variasi, yaitu: (0,01; 0,02; 0,03; 0,04 dan 0,05) mmol/L atau secara umum dapat dilakukan dengan cara memplotkan nilai absorban dengan variasi konsentrasi larutan standar menggunakan panjang gelombang maksimum yaitu pada 517 nm sehingga dari kurva kalibrasi ini nantinya akan diperoleh persamaan garis y = ax+b.

Pembuatan kurva kalibrasi ini bertujuan sebagai rujukan dalam menghitung kandungan antioksidan total yang terdapat pada bayam, seledri, sawi hijau, sawi putih, dan daun bawang yang akan diukur nantinya. Pembuatan kurva kalibrasi juga berfungsi untuk menghitung konsentrasi sampel yang terbaca pada spektrofotometer sinar tampak (UV-Vis) dengan cara mencari nilai regresi pada kurva kalibrasi.

Perhitungan konsentrasi ini didapatkan dari nilai x pada persamaan garis yang diperoleh. Kurva kalibrasi yang baik memenuhi Hukum *Lambert Beer* dan kurva berupa garis liniear serta nilai r yang didapatkan lebih besar dari 0,9770.
Metode DPPH didapatkan nilai koefisien korelasinya 0,9968. Nilai koefisien korelasinya mendekati 1, ini menjelaskan bahwa semakin tinggi konsentrasi asam askorbat, maka nilai absorbannya semakin rendah, dikarenakan sinar yang diserap merupakan sisa DPPH yang tidak bereaksi dengan asam askorbat, dan asam askorbat juga digunakan sebagai standar untuk penentukan kandungan antioksidan total pada sampel.

C. Penentuan Standar Deviasi Relatif

Tabel 2 Nilai SDR pada masing - masing sampel

Sampel	Nilai SDR (%)	
	Metanol	Heksana
Bayam	2,80	2,71
Seledri	2,29	1,66
Sawi Hijau	2,96	2,30
Sawi Putih	2,16	1,20
Daun Bawang	2,25	1,68

Berdasarkan Tabel 2 dapat dilihat bahwa Standar Deviasi Relatif (SDR) terkecil untuk pelarut metanol berturut-turut adalah sawi putih, daun bawang, seledri, bayam, dan sawi hijau. Sedangkan untuk pelarut heksana berturut- turut adalah sawi putih, seledri, daun bawang, sawi hijau, dan bayam. Nilai Standar Deviasi Relatif (SDR) yang didapatkan antara (1,2-2,8) %, nilai tersebut masuk dalam *range* nilai yang diperbolehkan. Sehingga metode DPPH valid digunakan untuk mengukur kandungan antioksidan dengan kedua jenis pelarut tersebut.
Standar Deviasi Relatif (SDR) dihitung untuk melihat ketelitian metode yang digunakan. Semakin kecil nilai SDR yang didapatkan, maka semakin teliti metode yang digunakan dan penelitian yang dilakukan. Nilai *range* yang dikatakan baik untuk nilai SDR adalah kecil sama dengan 5%[14]

D. Penentuan Persentase Perolehan Kembali

Persentase perolehan kembali digunakan untuk menentukan ketepatan metode yang digunakan. Dari data dapat diketahui bahwa ketepatan metode pada penentuan konsentrasi antioksidan total dalam sampel memenuhi syarat karena nilai persentase perolehan kembali yang diperbolehkan menurut literatur 100 ± 10 %[14].
Tabel 3 Nilai persentase perolehan kembali pada masing-masing sampel

Sampel	Perolehan kembali (%)	
Bayam	94,5	101,5
Seledri	108,5	91,0
Sawi Hijau	96,0	93,5
Sawi Putih	96,0	95,0
Daun Bawang	96,0	98,0

Berdasarkan Tabel 3 dapat dilihat bahwa nilai persentase perolehan kembali yang didapatkan masih dalam rentang yang diperbolehkan, yaitu (91,0-108,5) %, dari data-data diatas dapat disimpulkan bahwa metode DPPH valid digunakan dalam penentuan kandungan antioksidan total beberapa sampel menurut nilai persentase perolehan kembali.

E. Penentuan Kandungan Antioksidan Total

Kandungan antioksidan total pada sampel dilakukan triplo pada tiap pelarut. Perhitungan pada sampel Bayam (Perhitungan Lampiran 5) dilakukan sebanyak enam kali untuk tiap sampel dengan 2 macam pelarut, yaitu metanol dan heksana.
Tabel 4 Kandungan antioksidan dalam sampel

Sampel	Kandungan antioksidan total(µmol/g)	
	Metanol	Heksana
Bayam	93,63	39,17
Seledri	97,13	18,64
Sawi Hijau	92,40	18,35
Sawi Putih	92,50	22,18
Daun Bawang	87,64	18,13

Berdasarkan Tabel 4 dapat dilihat bahwa kandungan antioksidan total yang didapatkan pada pelarut metanol memiliki nilai tertinggi yaitu 97,13 µmol/g asam askorbat pada sampel Seledri, sedangkan pada pelarut heksana

memiliki nilai terendah yaitu sebesar 18,13 µmol/g asam askorbat pada sampel bayam. Pada sampel yang lainnya juga didapatkan nilai tertinggi pada pelarut metanol, dibandingkan pelarut heksana. Hal ini disebabkan karena senyawa antioksidan total yang banyak terdapat didalam sampel yang menggunakan pelarut yang bersifat polar atau memiliki sifat sama dengan metanol di bandingkan sampel yang menggunakan pelarut non polar atau memiliki sifat sama seperti heksana, dan juga faktor pengenceran pada metanol lebih tinggi yaitu 25 kali dibandingkan heksana hanya 10 kali, karena ekstrak sampel dengan pelarut metanol lebih pekat dan berwarna hijaudibandingkan ekstrak sampel dengan pelarut heksana yang berwarna kuning pucat atau hampir bening.

4. Kesimpulan

Penentuan kandungan antioksidan total dengan metode DPPH valid digunakan pada sampel bayam, seledri, sawi hijau, sawi putih, dan daun bawang, berdasarkan hasil linearitas, perhitungan LoD dan LoQ, persentase SDR dan nilai persentase perolehan kembali. Kandungan antioksidan tertinggi didapatkan pada pelarut metanol yaitu: bayam 93,63 µmol/g DW, seledri 97,13 µmol/g DW, sawi hijau 92,40 µmol/g DW, sawi putih 92,50 µmol/g DW dan daun bawang 87,64 µmol/g DW.

5. Ucapan terima kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Allah atas kesehatan dan kelancaran segalanya demi terselesaikannya penulisan artikel ini.

Daftar Pustaka

1. Djapiala, F. Y.; Lita A.D.Y.; Montolalu; Feni M., Kandungan Total Fenol dalam Rumput Laut *Cauleipsa racemosa* yang Berpotensi Sebagai Antioksidan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Unsrat, Manado, 7 (2). 2014. 7-9
2. Wisudyaningsih, B., Validasi Metode Spektrofotometri Ofloksasin dalam Larutan Dapar Fosfat, *Stomastognatic J.K.G. Unej*,9. (2). 2012. 77-81
3. Kukic, J., Silvana P., Marjan N., Antioxidant Activity of four endemic *Stachis Taxa Biol Pharm Bull*, 29. (14). 2000. 725-729
4. Nathanael, J., N. Wijayanti, P.K. Atmojo. Uji Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Kulit Jeruk Purut (Citrus Hystrix) pada Sel Hela Cervical Cancer Cell Line. Fakultas Teknobiologi, UAJY, Jl. Babarsari, Yogyakarta, 6. (3). 2013. 75-80
5. Carlsen, M.; Halvorsen B; Holte K., The Total Antioxidant Content of More Than 3100 Foods.Baverages, Species, Herbs and Supplement Used World Wide. *Nutrition Journal*,9. (3). 2010. 36-42
6. Sarma, A.D.; Mallick AR Bhosh, Free Radicals and Their Hole in Different Condition. An Overview. Int. *J Pharm Sci and Research*, 3 (2).2010. 185-192
7. Khalil, M.Y., Mustafa, A.A., Naguib, N. Y.: Growth, phenolic compounds and antioxidant activity of some medical plants grown under organic farmer condition.5. (2). 2007. 451-457.
8. Arouma, O.I Free Radical, Oxidative Stess, and antioxidant in Human Health and Disease. Anal. Chim. 6. (2). 1998. 150-154
9. Antolovich, M., P.D. Prenzler, E. Patsalides. Methods for Testing Antioxidant Activity. J. Critic, 3. (2). 2009. 43-45
10. Stevi G. D.; Dewa G. K.., Vanda S., Aktivitas Antioksidan Ekstrak Fenolik dari Buah Manggis *(Garcinia mongostana L). Jurnal MIPA UNSRAT*, 4. (2). 2012. 25-27
11. Anderson, R.L., Practical Statistic for Analytical Chemist. *Van Nostrand Reinhold Company,* New York, 4. (1). 1987. 179-184
12. Andrianto Y. C., Validasi Metode Penetapan Kadar Campuran Parasetamol dan Ibuprofen Secara Spektrofotometri UV dengan Aplikasi Metode Panjang Gelombang,*Skripsi,*Fakultas Farmasi, Universitas Sanata Darma, Yogyakarta, 6. (2). 2009. 117-123
13. Yefrida; Mega U.; Umiati L., Validasi Metode Penentuan Antioksidan Total (Dilihat Sebagai Asam Sitrat) dalam Sampel Jeruk Secara Spektrofotometri dengan Menggunakan Oksidator $FeCl_3$ dan Pengomplek Ortofenantrolin, *J Ris Kim,* 7. (2). 2014. 186-193.

PENENTUAN KANDUNGAN FENOLIK TOTAL, UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN, AKTIVITAS ANTIMIKROBA, DAN UJI SITOTOKSIK DARI EKSTRAK HEKSANA DAUN MIANA (*Plectranthus scutellarioides* (L.) R. Br)

Suryati, Bustanul Arifin , Febria Syafitri

Laboratorium Kimia Organik Bahan Alam, Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengtahuan Alam, Universitas Andalas, Kampus Limau Manis, Padang, 25163 Indonesia
E-mail: febria.syafitri26@gmail.com

Abstrak: Tumbuhan miana (*Plectranthus scutellarioides* (L.) R. Br) termasuk ke dalam famili *Lamiaceae*. Tumbuhan ini secara tradisional banyak digunakan untuk pengobatan bronkitis, asma, diare, dan demam. Dalam penelitian ini telah dilakukan ekstraksi dengan cara maserasi menggunakan pelarut heksana dan didapatkan rendemen ekstrak sebesar 2,434 %. Terhadap ekstrak yang diperoleh dilakukan penentuan kandungan fenolik total dengan metode *Folin-Ciocalteau* dan didapatkan kadar fenolik totalnya sebesar 0,4015 mg/L GAE. Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode DPPH (1,1-*diphenyl*-2-*picrylhydrazyl*) dan didapatkan nilai IC_{50} sebesar 116,093 mg/L. Uji aktivitas antibakteri dan antijamur dilakukan dengan metode difusi cakram melalui penentuan zona bening terhadap bakteri *Escherichia coli*, bakteri *Staphylococcus aureus* dan jamur *Candida albicans*. Hasil uji antimikroba menunjukkan sifat antibakteri dan antijamur kategori sedang terhadap bakteri *Escherichia coli,* bakteri *Staphylococcus aureus* dan jamur *Candida albicans*. Hasil uji sitotoksik dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) diperoleh nilai LC_{50} yaitu 940,589 mg/L. Dari penelitian ini diketahui bahwa ekstrak heksana daun Miana menunjukkan aktivitas tingkat sedang, baik aktivitas antioksidan, antibakteri, antijamur, maupun sitotoksik .

Kata Kunci: *Plectranthus scutellarioides* (L.) R. Br, Fenolik total, Antioksidan, Antibakteri, Antijamur, Toksisitas

I. Pendahuluan

Miana merupakan salah satu tanaman yang termasuk ke dalam daftar 66 komoditas tanaman biofarmaka berdasarkan keputusan menteri Pertanian Nomor: 511/kuts/PD. 310/9/2006[1]. Tumbuhan miana termasuk dalam famili lamiaceae dimana daunnya memiliki peran penting dalam dunia kesehatan. Kegunaan dari tumbuhan ini dalam pengobatan tradisional antara lain : bronkitis, asma, diare, demam, epilepsi, dan TBC[2].

Tumbuhan ini dapat tumbuh pada tanah yang lembab dan biasanya dapat tumbuh setinggi 0,5-1 m, meskipun ada beberapa kemungkinan untuk dapat tumbuh setinggi 2 meter[3]. Daun berbentuk bulat telur yang melekuk menyerupai bentuk jantung dengan ujung meruncing dan tulang daun menyirip jelas. Permukaan daun agak mengilap dan berambut halus, panjang 7-11 cm dengan lebar 3-6 cm dan berwarna ungu kemerahan[4].

Kandungan kimia yang utama dalam daun miana meliputi klorofilin, flavonoid seperti cirsimaritin, sitosterol-D-glukosida[2]. Daun miana juga mengandung tanin, triterpenoid, steroid dan minyak atsiri yang mampu memberikan efek antibakteri[5]. Selain itu daun miana juga mengandung asam rosmarinat dan antosianin berupa pelargonidin-3-rutinosida dan sianidin-3-glukosida[6].

Berdasarkan penelitian yang telah dilaporkan sebelumnya, maka penelitian ini akan dilakukan penentuan kandungan fenolik total dengan metode *Folin-Ciocalteau*, aktivitas antioksidan dengan metode DPPH, antibakteri dan antijamur dengan metode difusi cakram, serta uji sitotoksik dengan metode BSLT dari ekstrak heksana daun miana.

II. Metodologi Penelitian

2.1 Alat

Peralatan yang digunakan diantaranya yaitu maserator (botol gelap) untuk maserasi, lampu spiritus, plat KLT, *aluminium foil*, kertas saring, botol vial, alat distilasi, neraca analitik dan teknis, grinder, oven, *rotary evaporator,* lampu *UV* (λ 254 dan 356 nm) dan spektrofotometer UV-VIS. Pengerjaan uji aktivitas antimikroba digunakan *magnetic stirer*, *magnetic bar,* inkubator, *test tube,*

autoclave, *petri dish,* mikropipet, jarum ose, kertas cakram, spiritus, kain kasa, kapas, penggaris, *laminar air flow*.

2.2 Bahan

Sampel yang digunakan adalah ekstrak heksana dari daun miana, Larva udang *Arthemia salina leach*, jamur *Candida albicans*, bakteri *Staphylococcus aureus,* dan bakteri *Escherichia coli*.

Bahan kimia yang digunakan adalah pelarut teknis yang telah didistilasi yaitu heksana, etil asetat, dan metanol. Bahan yang digunakan untuk uji fitokimia adalah pereaksi Mayer untuk identifikasi alkaloid, pereaksi *Liebermann Burchard* (anhidrida asetat 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, natrium hidroksida untuk identifikasi kumarin. Untuk uji antioksidan dan kandungan fenolik total digunakan reagen *Folin-Ciocalteu*, natrium karbonat, asam galat, asam askorbat, DPPH, akuades. Untuk uji antimikroba digunakan *amoxicillin* 78%, media *Mueller-Hinton* agar, media Nutrient agar, alkohol 70%, nistatin dan NaCl fisiologis 0,9%. Untuk uji sitotoksik digunakan dimetilsulfoksida.

2.3 Prosedur Penelitian

2.3.1 Preparasi Sampel Daun

Daun Miana segar dirajang halus kemudian dikering anginkan diruangan terbuka yang tidak terkena cahaya matahari langsung. Selanjutnya dijadikan bubuk menggunakan grinder kemudian ditimbang. Sampel berupa bubuk digunakan untuk tahapan selanjutnya. Sebagian sampel tumbuhan miana segar digunakan untuk determinasi tumbuhan. Determinasi tumbuhan dilakukan di Herbarium Universitas Andalas (ANDA).

2.3.2 Uji Kandungan Metabolit Sekunder

Ekstrak heksana (0,5 g) dimasukkan kedalam tabung reaksi dan dilarutkan dengan pelarut heksana. Kemudian ditambahkan kloroform:akuades dengan perbandingan (1:1), selanjutnya dikocok dan dibiarkan sampai terbentuk dua lapisan kloroform-air. Lapisan kloroform (bagian bawah) digunakan untuk pemeriksaan senyawa triterpenoid dan steroid dengan menggunakan metode *Liebermann Burchard* sedangkan lapisan air (bagian atas) untuk pemeriksaan senyawa flavonoid, fenolik dan saponin. Uji flavonoid dengan metode *Shinoda Test* (bubuk magnesium dan asam klorida pekat), uji fenolik dengan penambahan besi (III) klorida, dan uji saponin dengan pengocokan lalu ditambahkan asam klorida.

2.3.3 Ekstraksi Daun Miana

Ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi menggunakan pelarut heksana. Maserasi dilakukan berulang-ulang hingga maserat menjadi bening atau tidak memberikan bercak noda lagi pada uji dengan plat KLT atau tidak memberikan sisa keruh pada kaca arloji. Pada saat ini maserasi dihentikan. Setiap maserat yang diperoleh diuapkan menggunakan rotary evaporator pada suhu 40-45^{o}C, kemudian ditimbang.. Terhadap ekstrak heksana yang diperoleh dilakukan uji kandungan metabolit sekunder, penentuan kandungan fenolik total, uji aktivitas antioksidan, antibakteri, antijamur, dan uji sitotoksik.

2.3.3 Uji Kandungan Fenolik total

Penentuan fenolik total dengan metode *Folin-Ciocalteu*. Larutan standar dibuat variasi konsentrasi larutan standar asam galat yaitu dengan konsentrasi 10; 20; 40; 60; 80 mg/L. Diambil 0,5 mL sampel dimasukkan kedalam labu ukur 10 mL ditambahkan dengan 0,5 mL reagen *Folin-Ciocalteu* dan didiamkan selama 5 menit. Kemudian ditambahkan 1 mL larutan natrium karbonat 20% dan diencerkan dengan akuades sampai tanda batas. Campuran didiamkan selama dua jam. Kemudian diukur absorban pada panjang gelombang 765 nm. Berdasarkan nilai absorban yang didapatkan, dibuat kurva kalibrasi dan didapatkan persamaan regresi dari larutan standar asam galat.

Ekstrak heksana ditimbang sebanyak 10 mg dan dilarutkan dalam 10 mL metanol sehingga didapatkan konsentrasi sebesar 1000 mg/L. Larutan induk 1000 mg/L diencerkan hingga konsentrasi 100 mg/L, kemudian dilakukan hal yang sama dengan larutan standar secara bersamaan. Kandungan fenolik total masing-masing larutan uji ditentukan dari persamaan regresi kurva larutan standar asam galat. Kandungan fenolik total dinyatakan dalam *Gallic Acid Equivalent* (GAE).

2.3.4 Uji Aktivitas Antioksidan

Uji aktivitas antioksidan dari daun miana dilakukan dengan menggunakan metode DPPH. Pembuatan larutan DPPH dengan menimbang 4 mg DPPH kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL dan dilarutkan dengan menggunakan

metanol hingga tanda batas dan didapatkan larutan DPPH 0,1 mM.

Ekstrak heksana dibuat lima variasi konsentrasi larutan uji yaitu 10, 20, 30, 40 dan 50 mg/L. Asam askorbat dibuat lima variasi konsentrasi dari larutan uji yaitu 0,5; 1; 1,5; 2; dan 2,5 mg/L.

Masing-masing variasi konsentrasi dari larutan uji dimasukkan ke dalam vial sebanyak 3 mL, tambahkan dengan 1 mL DPPH 0,1 mM. Campuran didiamkan selama 30 menit setelah penambahan DPPH 0,1 mM. Lakukan penambahan di tempat yang gelap. Ukur absorban dari masing-masing konsentrasi pada panjang gelombang 517 nm. Berdasarkan absorban yang didapatkan, dihitung persentase inhibisi dengan rumus berikut:

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{Ak-As}}{\text{Ak}} \text{x } 100$$

Setelah didapatkan nilai persentase inhibisi dari perhitungan, maka nilai IC_{50} dari setiap variasi konsentrasi larutan uji dapat diketahui dengan menggunakan persamaan regresi dari data yang didapatkan.

2.3.5 Uji Aktivitas Antibakteri dengan Metode Difusi Cakram

Media nutrient agar (NA) sebanyak 2 g dimasukkan ke dalam erlenmayer 250 mL, ditambah 100 mL akuades, dipanaskan dan diaduk menggunakan *magnetic stirer* sampai larut sempurna dan mendidih. Sementara itu, jarum ose dan tabung reaksi yang sudah ditutup dengan kain kasa dan kapas dibungkus dengan *aluminimum foil*. Erlenmayer berisi media, tabung reaksi dan jarum ose yang sudah dibungkus, dimasukkan ke dalam autoklaf untuk disterilkan sampai tekanan pada autoklaf mencapai 1 atm dan 121°C, dibiarkan selama 15 menit.

Laminar flow disiapkan kemudian media NA dalam erlenmayer dituangkan kedalam tabung reaksi (sepertiga bagian tabung) dan ditunggu padat. Setelah padat, bakteri (*Eschericia coli* dan *Staphylococcus aureus*) diinokulasikan pada media menggunakan jarum ose dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C di dalam inkubator.

Agar Mueller-Hinton (MHA) sebanyak 7,2 gram dilarutkan dalam 200 mL akuades, dipanaskan dan diaduk menggunakan *magnetic stirer* sampai larut dan mendidih. Larutan MHA disterilkan dalam autoklaf pada tekanan 1 atm dan temperatur 121°C. Selanjutnya, MHA (15 mL) dituangkan ke dalam pentri disk dan dibiarkan memadat di dalam *laminar flow.*

Larutan uji dibuat dengan beberapa variasi konsentrasi melalui pengenceran bertingkat yaitu konsentrasi 1000; 500; 250; 125; 62,5 dan 31,25 mg/L.

Pembuatan suspensi bakteri (*Escherichia coli dan Staphylococcus aureus*) dilakukan dengan menggunakan NaCl fisiologis 0,9%. Koloni bakteri (*Escherichia coli dan Staphylococcus aureus*) diambil dari biakan murni dengan menggunakan jarum ose kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang telah berisi 200 µL NaCl fisiologis 0,9%

Bakteri uji (200 µL) diambil dan dituangkan ke dalam MHA, diratakan dan didiamkan hingga kering selama 15 menit pada suhu kamar didalam *laminar air flow*. Kertas cakram steril (diameter 6 mm) dicelupkan ke dalam larutan uji, diletakan pada media MHA dan diinkubasi pada suhu ruang selama 24 jam dan percobaan ini dilakukan dua kali ulangan (duplo). Kontrol positif digunakan *amoxicillin* 31,25 mg/L dan kontrol negatif digunakan heksana distilat. Adanya zona bening disekitar cakram menunjukkan adanya daerah hambat pertumbuhan bakteri uji. Diameter zona bening tersebut diukur secara horizontal dan vertikal dengan menggunakan alat ukur.

2.3.6 Uji Aktivitas Antijamur

Sebanyak 11,7 g serbuk *Potato Dextrose Agar* (PDA) dilarutkan dengan 300 mL air dalam gelas beaker menggunakan *hotplate* dan *magnetic stirer* hingga diperoleh larutan yang jernih. Media ini kemudian disterilisasi dalam autoklaf pada suhu 121°C tekanan 1 atm selama 15 menit.

Jamur uji (*Candida albicans*) diremajakan terlebih dahulu kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 48 jam.

Larutan uji dibuat dengan beberapa variasi konsentrasi melalui pengenceran bertingkat yaitu konsentrasi 1000; 500; 250; 125; 62,5 dan 31,25 mg/L.

Pembuatan suspensi jamur (*Candida albicans*) dilakukan dengan menggunakan NaCl fisiologis 0,9%. Koloni jamur (*Candida albicans*) diambil dari biakan murni dengan menggunakan jarum ose kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang telah berisi 200 µL NaCl fisiologis 0,9%

Media agar 15 mL dituangkan ke dalam cawan petri, dan ditunggu hingga padat. Dituang 200 µL inokulum jamur (*Candida albicans*) ke dalam cawan petri dan diratakan keseluruh permukaan. Kertas cakram 6 mm dicelupkan ke dalam larutan uji selama ± 10 menit, kemudian diangin-anginkan sampai tidak ada larutan yang

menetes. Cawan petri ditutup kemudian diinkubasi selama 5 hari pada suhu ruang. Aktivitas antijamur diamati berdasarkan diameter daerah hambat yang ditunjukkan dengan adanya zona bening yang terbentuk disekeliling kertas cakram. Diameter zona bening diukur menggunakan alat ukur.

2.3.7 Uji Sitotoksik

Uji sitotoksik pada penelitian ini dilakukan dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)*. Ekstrak heksana dibuat dengan beberapa variasi konsentrasi melalui pengenceran bertingkat yaitu konsentrasi 1000; 500; 250; 125; 62,5 dan 31,25 mg/L.

Kedalam setiap sampel uji ditambahkan 50 µL larutan dimetilsulfoksida sampai semua sampel larut. Kemudian ditambahkan 3 mL air laut terhadap masing-masing sampel. Lalu ditambahkan masing-masing sebanyak 10 ekor larva udang kedalam masing-masing sampel. Kemudian cukupkan air laut pada sampel sampai volumenya 5 mL. Setelah itu dilakukan pengamatan terhadap larva udang didalam larutan sampel dengan cara menghitung jumlah larva yang mati setelah 24 jam. Hasil pengamatan dimasukkan ke dalam tabel dan diolah untuk mendapatkan nilai LC_{50}.

III. Hasil dan Pembahasan

3.1 Identifikasi Tumbuhan

Berdasarkan hasil identifikasi tumbuhan di Hebarium Universitas Andalas (ANDA) Padang melalui surat nomor 478/K-ID/ANDA/XII/2017 (Lampiran 1) diketahui bahwa tumbuhan yang digunakan sebagai sampel pada penelitian ini adalah *Plectranthus scutellarioides* (L.) R. Br yang termasuk dalam famili *Lamiaceae*[3].

3.2 Uji Kandungan Metabolit Sekunder

Hasil uji kandungan metabolit sekunder yang terdapat pada daun miana dapat dilihat pada Tabel 3.1.

Tabel 3.1 Kandungan Metabolit Sekunder

No	Metabolit Sekunder	Pereaksi	Hasil	
			Daun Miana	Ekstrak Heksana
1	Flavonoid	Mg+HCl	+	-
2	Fenolik	$FeCl_3$	+	-
3	Saponin	H_2O/HCl	+	-
4	Triterpenoid	LB	+	+
5	Steroid	LB	+	+
6	Alkaloid	Mayer	+	-
7	Kumarin	NaOH 1 %	-	-

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

Berdasarkan data tabel diatas dapat diketahui bahwa daun miana mengandung berbagai metabolit sekunder diantaranya flavonoid, fenolik, saponin, alkaloid, steroid dan triterpenoid. Sedangkan pada ekstrak heksana hanya mengandung steroid dan triterpenoid.

3.3 Ekstraksi sampel

Ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi (perendaman) berulang-ulang dengan pelarut heksana dan diperoleh ekstrak heksana sebanyak 68,1554 g dengan kadar ekstrak 2,434%. Dari kadar ektrak yang diperoleh dapat diketahui bahwa ekstrak heksana yang diperoleh sangat sedikit. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa yang dapat larut pada pelarut heksana (nonpolar) hanya sedikit.

3.4 Kandungan Fenolik total Ekstrak Heksana

Metode yang digunakan dalam penentuan kandungan fenolik total pada penelitian ini adalah metode *Folin-Ciocaeltau*. Penentuan kandungan fenolik total dari larutan sampel (ekstrak heksana) dapat dihitung dari nilai regresi larutan standar.

Dari kurva standar didapatkan persamaan regresi dari larutan standar asam galat y = 0,0066x + 0,0723, sehingga diperoleh kandungan fenolik total yang terdapat dalam ekstrak heksana daun miana sebesar 0,4015 mg/L GAE. Hal ini menunjukkan bahwa kandungan fenolik total dari ekstrak heksana sangat rendah dan dalam ekstrak heksana ini hampir tidak mengandung senyawa fenol karena pada umumnya senyawa fenolik bersifat polar dan larut pada pelarut polar.

3.5 Aktivitas Antioksidan Ekstrak Heksana

Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode DPPH dengan menggunakan asam askorbat sebagai kontrol positif. Pada penelitian ini digunakan metode DPPH karena merupakan metode yang sederhana, mudah, dan cepat. Hasil pengukuran aktivitas antioksidan asam askorbat dicantumkan pada Tabel 3.2.

Tabel 3.2 Penentuan nilai IC_{50} asam askorbat

Asam Askorbat (mg/L)	Absorban	% Inhibisi	IC_{50} (mg/L)

0,5	0,157	17,801	1,239
1,0	0,106	44,502	
1,5	0,072	62,303	
2,0	0,038	80,104	
2,5	0,010	94,764	
Kontrol Negatif	0,191	-	-

Sedangkan hasil pengukuran aktivitas antioksidan dari ekstrak heksana dicantumkan pada Tabel 3.3.

Sampel (mg/L)	**Absorban**	**% Inhibisi**	**IC_{50} (mg/L)**
10	0,185	3,141	116,093
20	0,180	5,759	
30	0,168	12,041	
40	0,160	15,968	
50	0,152	20,418	

Pada penelitian ini diperoleh nilai IC_{50} dari asam askorbat sebesar 1,239mg/L sedangkan nilai IC_{50} ekstrak heksana sebesar 116,093 mg/L. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak heksana memiliki aktivitas antioksidan yang kurang aktif karena semakin besar nilai IC_{50} maka semakin tinggi aktivitas antioksidan yang terkandung dalam suatu senyawa. Menurut studi pustaka, aktivitas antioksidan digolongkan sangat aktif jika nilai IC_{50} kurang dari 50 mg/L, digolongkan aktif bila nilai IC_{50} 50-100 mg/L, digolongkan sedang bila nilai IC_{50} 101-250 mg/L, dan digolongkan lemah bila nilai IC_{50} 250-500 mg/L, dan dikatakan tidak aktif antioksidan apabila nilai IC_{50} lebih besar dari 500 mg/L[8]. Hubungan fenolik total dan antioksidan berbanding lurus, dimana semakin tinggi kandungan fenolik total dalam suatu sampel maka semakin tinggi aktivitas antioksidan dalam sampel tersebut.

3.4 Aktivitas Antibakteri

Pada uji aktivitas antibakteri dari ekstrak heksana daun miana dilakukan dengan metode difusi cakram.

Tabel 3.4 Hasil pengamatan uji antibakteri ekstrak heksana daun miana terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*

Ekstrak	**Diameter Zona Bening (mm)**		
	Konsentrasi (mg/L)	**Bakteri**	
		E.coli	***S.aureus***
Heksana	31,25	8,75	6,65
	62,50	9,05	7,00
	125,00	9,00	7,35
	250,00	7,55	7,90
	500,00	7,70	8,35
	1000,00	8,15	9,05
Kontrol (+) *Amoxicillin*	31,25	9,75	9,00
Kontrol (-) Heksana	-	0,00	0,00

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa Ekstrak heksana daun miana memiliki daya hambat dengan kategori sedang karena memiliki diameter zona bening 5-10 mm terhadap bakteri *Escherichia coli* maupun bakteri *Staphylococcus aureus*. Berdasarkan literatur, kriteria kekuatan daya antibakteri lemah jika diameter zona bening $\leq$5, sedang jika diameter zona bening 5-10, kuat jika diameter zona bening 10-20, dan sangat kuat jika diameter zona bening lebih dari 20[10].

Dari Tabel 3.4 dapat dilihat perbedaan diameter zona bening, hal ini disebabkan karena adanya perbedaan komposisi kimia dinding sel antara bakteri gram positif dan bakteri gram negatif. Bakteri gram positif lebih sensitif terhadap antibakteri, karena struktur dinding sel bakteri gram positif lebih sederhana dibandingkan struktur dinding sel bakteri gram negatif sehingga memudahkan senyawa antibakteri untuk masuk kedalam sel bakteri gram positif[11].

3.6 Aktivitas Antijamur

Uji aktivitas antijamur dilakukan dengan metode difusi cakram. Pada uji aktivitas antijamur digunakan nistatin sebagai kontrol positif dan heksana sebagai kontrol negatif.

Tabel 3.5 Hasil pengamatan uji antijamur ekstrak heksana daun miana

Ekstrak	**Konsentrasi Sampel (mg/L)**	**Zona Bening (mm)**
Heksana	31,25	6,10
	62,5	6,15
	125	6,60
	250	6,80
	500	7,55
	1000	8,20
Kontrol (+) Nistatin	31,25	14,5
Kontrol (-) Heksana	-	0,00

Berdasarkan Tabel 3.5 dapat diketahui bahwa dengan meningkatnya konsentrasi maka semakin besar zona bening yang terbentuk. Kriteria kekuatan daya antibakteri dikatakan "lemah" jika diameter zona bening ≤5 mm, "sedang" jika diameter zona bening 5-10 mm, "kuat" jika diameter zona bening 10-20 mm, dan "sangat kuat" jika diameter zona bening ≥ 20 mm[11]. Berdasarkan kriteria tersebut dapat dikatakan bahwa daya hambat ekstrak heksana terhadap jamur *Candida albicans* termasuk kategori "sedang". Hal ini dikarenakan diameter zona bening yang dihasilkan oleh ekstrak heksana 5-10 mm.

3.7 Uji Sitotoksik

Uji sitotoksik dari ekstrak heksana daun miana dilakukan dengan menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Pada metode ini sifat toksisitas ditentukan melalui penentuan nilai LC_{50}.

Hasil uji toksisitas dari ekstrak heksana menunjukkan nilai LC_{50} yang diperoleh sebesar 940,589 mg/L. Hasil ini diperoleh dari presentase kematian larva udang dari berbagai variasi konsentrasi yang dikonversikan menjadi nilai probit sesuai tabel nilai probit berdasarkan presentrase kematian. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa konsentrasi larutan sampel sebanding dengan jumlah udang yang mati. Nilai LC_{50} dihitung berdasarkan nilai persamaan regresi antara log konsentrasi dengan nilai probit. Dimana persamaan regresi yang diperoleh adalah y = 1,1229x + 1,6614 .

Setelah didapat persamaan regresi masing-masing ekstrak, dapat dihitung nilai LC_{50}. Dari hasil ini diperoleh nilai LC_{50} yaitu 940,589 mg/L. Berdasarkan nilai toksisitas dalam tumbuhan dapat dikatakan sangat toksik jika $LC_{50} \leq 30$ mg/L, bersifat toksik jika 31 mg/L $\leq LC_{50} \leq$ 1000 mg/L dan dikatakan bersifat tidak toksik jika LC_{50} >1000 mg/L[12]. Dari literatur tersebut dapat dikatakan bahwa ekstrak heksana dari daun miana ini bersifat toksik karena nilai LC_{50} yang diperoleh berada pada 31 mg/L $\leq LC_{50} \leq$ 1000 mg/L.

IV. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan terhadap daun miana dapat disimpulkan bahwa dalam daun miana mengandung senyawa metabolit sekunder yang banyak, tetapi dalam ekstrak heksana hanya mengandung triterpenoid dan steroid. Kandungan fenolik total ekstrak heksana daun miana adalah 0,4015 mg/L GAE. Sedangkan nilai IC_{50} pada penentuan antioksidan sebesar 116,093 mg/L tergolong kurang aktif sebagai antioksidan. Ekstrak heksana daun miana menunjukkan sifat antibakteri dan antijamur kategori sedang terhadap bakteri *Escherichia coli,* bakteri *Staphylococcus aureus,* dan jamur *Candida albicans*. Ekstrak heksana daun miana bersifat toksik berdasarkan nilai LC_{50} yaitu 940,589 mg/L. Dari penelitian ini diketahui bahwa ekstrak heksana daun Miana menunjukkan aktivitas kategori sedang, baik aktivitas antioksidan, antibakteri, antijamur, maupun sitotoksik.

V. Ucapan Terima Kasih

Penulis menyampaikan terima kasih kepada Dr. Suryati dan Bustanul Arifin, M.Si sebagai dosen pembimbing yang telah memberikan pengarahan dan petunjuk dalam menyelesaikan penelitian dan jurnal ilmiah ini. Selanjutnya penulis juga mengucapkan terima kasih kepada rekan-rekan di Laboratorium Kimia Organik Bahan Alam serta analisnya yang telah memberikan bantuan dan fasilitas dalam penyelesaian penelitian dan penulisan jurnal ilmiah ini.

Referensi

[1] Tangkeallo, Christiani, Widyaningsih, D. T: Aktivitas Antioksidan Serbuk Minuman Instan Berbasis Miana Kajian Jenis Bahan Baku Dan Penambahan Serbuk Jahe, *Jurnal Pangan Dan Agroindustri*, 2014, 2(4), 278-284

[2] Jain, A. K; Dixit, A; Mehta, S. C: Wound Healing Activity Of Aqueous Extracts Of Leaves And Roots Of Coleus Aromaticus In Rats, *Acta Poloniae Pharmaceutica-Drug Research*, 2012, 69, 1119-1123

[3] Suva, M. A; Patel, A.M; Sharma, N; Coleus Species: Solenostemon Scutellarioide, *Inventi Jornal Rapid : Planta Activa*, 2015, 2, 1-5

[4] Kinho, J; Irawati, D.D.A; Halawane, J; Nurani, L; Halidah; Kafiar, Y; Karundeng, M.C, *Tumbuhan Obat Tradisional Di Sulawesi Utara*, Jilid II, Balai Penlitian Kehutanan Manado, Manado

[5] Marpaung, P. N. S; Wullur, A. C; Yamlean, P. V. Y: Uji Efektivitas Sediaan Salep Ekstrak Daun Miana (*Coleus scutellarioides* (L) Benth.) Untuk Pengobatan Luka Yang Terinfeksi Bakteri Staphylococcus Aureus Pada Kelinci (*Oryctolagus Cuniculus*). *Jurnal*

Ilmiah Farmasi – Unsrat, 2014, 3, 2302 – 2493

[6] Hardiyanti; Yuniar: Ekstraksi dan Uji Antioksidan Senyawa Antosianin dari Miana (Coleus scutellarioides L. Benth) serta Aplikasi Pada Minuman, *Jurnal Kimia Unand*, 2013, 2(2), 44-50

[7] Lung, J. K. S; Destiani. D. P: Uji Aktivitas Antioksidan Vitamin A, C, E dengan metode DPPH, *Jurnal Farmaka*, 15(1), 53-62

[8] Rusli, R; Giuliana, F. E; Ardana, M: Pengaruh pH Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Miana (*Coleus Atropurpureus L. Benth*), *Seminar Nasional Kefarmasian Fakultas Farmasi Universitas Mulawarman*, Samarinda, 5 – 6 Juni 2015

[9] Cahyaningrum, K; Husni, A; Budhiyanti, S. A: Antioxidant Activity Of Brown Seaweed (*Sargassum polycystum*) Extracts, *AGRITECH,* 2016, 2, 36

[10] Jannata, R.H; Gunadi, A; Ermawati, T: Antibacterial Activity Of Manalagi Apple Peel (*Malus Sylvestris Mill.)* Extract On The Growth Of Streptococcus Mutans, *Jurnal Pustaka Kesehatan*, 2014, 2(1)

[11] Sudewi, S; Lolo, W.A: Kombinasi Ekstrak Buah Mengkudu (*Morinda cotrifolia L.*) Dan Daun Sirsak (*Annona muricata L.*) Dalam Menghambat Bakteri Escherichia coli Dan Staphylococcus aureus, *Jurnal Ilmuah Farmasi*, 2016, 4(2), 36-42

[12] Ningdyah,A.W; Alimuddin, A.H; Jayuska, A: Uji Toksisitas Dengan Metode Bslt (*Brine Shrimp Lethality Test*) Terhadap Hasil Fraksinasi Ekstrak Kulit Buah Tampoi (Baccaurea macrocarpa), *JKK*, 2015, 4(1), 75-83

PENGUJIAN ANTIBAKTERI DAN ANTIJAMUR DARI DAUN PURING MERAH (*Codiaeum variegatum* (L.) Rumph)

Hasnirwan*, Vinny Jovalyna, Adlis Santoni

Laboratorium Kimia Organik Bahan Alam, Jurusan Kimia,
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Andalas,
Kampus Limau Manis, Padang, 25163 Indonesia
*Email: hasnirwan1953@gmail.com

Abstrak: Puring (*Codiaeum variegatum* (L.) Rumph) merupakan tanaman hias yang banyak dibudidaya dan juga digunakan sebagai tanaman obat tradisional diantaranya obat antifungal, antikanker, obat diare berdarah, obat penahan rasa sakit dan sebagai anti influenza. Senyawa metabolit sekunder yang didapatkan dari hasil uji fitokimia dari ekstrak daun puring ialah alkaloid, flavonoid, fenolik, triterpenoid, dan steroid. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui efektivitas ekstrak daun puring (*Codiaeum variegatum* (L.) Rumph) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Eschericia coli*, bakteri *Staphylococcus aureus*, dan jamur *Candida albicans*. Konsentrasi ekstrak daun puring yang digunakan dalam penelitian ini adalah 31,25 mg/L, 62,5 mg/L, 125 mg/L, 250 mg/L, 500 mg/L dan 1000 mg/L. Penentuan daya hambat dapat dilihat dari diameter zona bening pada ekstrak etanol, fraksi etil asetat, fraksi n-heksan dan fraksi etanol-air daun puring dengan konsentrasi terbesar 1000 mg/L, kontrol positif dan kontrol negatif berturut-turut adalah 8 mm; 8 mm; 7,5 mm; 7,3 mm; 7,5 mm; dan 0 mm untuk bakteri *Eschericia coli* sedangkan pada bakteri *Staphylococcus aureus* didapatkan zona hambat sebesar 10 mm, 13,5 mm, 13 mm, 10 mm, 17 mm dan 0 mm. Pada aktivitas antijamur pada ekstrak etanol, fraksi etil asetat, fraksi n-heksan dan fraksi etanol-air dari daun puring dengan konsentrasi terbesar 1000 mg/L, kontrol positif dan kontrol negatif berturut-turut adalah 2 mm, 4,5 mm, 2,2 mm, 2,1 mm, 23 mm dan 0 mm. Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa terdapat efek antibakteri dan antijamur dari ekstrak daun puring terhadap bakteri *Eschericia coli, Staphylococcus aureus* dan jamur *Candida albicans*.

Kata kunci : Puring (*Codiaeum variegatum* (L.) Rumph) metabolit sekunder, antibakteri, antijamur.

1. Pendahuluan

Keanekaragaman hayati di Indonesia merupakan salah satu kekayaan alam yang berperan penting dalam berbagai lapisan masyarakat. Sebagai negara dengan budaya yang masih kental akan pemanfaatan ragam tanaman tradisional untuk mengobati berbagai penyakit, masyarakat terutama di daerah pedesaan cenderung memakai tanaman sebagai obat tradisional untuk menyembuhkan penyakit yang diderita[1].

Dari waktu ke waktu kebutuhan akan obat-obatan semakin meningkat akibat pola hidup manusia yang tidak sehat dan banyaknya jenis penyakit yang muncul akhir-akhir ini. Jamur *Candida albicans* yang merupakan spesies jamur yang paling sering menyebabkan infeksi jamur pada manusia. Apabila ditinjau dari insidennya, infeksi *Candida albicans* meningkat 87% dalam kurun waktu 9 tahun, yaitu dari tahun 1980 sampai 1989. Infeksi *Candida albicans* pada tubuh manusia dapat meningkat apabila sistem pertahanan tubuh menurun, permukaan kulit yang lembap akibat terpapar oleh keringat, air, urin, atau saliva, serta konsumsi obat antibiotik oral secara rutin. *Candida albicans* dapat menyebar ke organ lain apabila imunitas seluler menurun[2].

Disisi lain bakteri *Staphylococcus aureus* biasanya terdapat pada saluran pernafasan atas dan kulit. *Staphylococcus aureus* merupakan patogen oportunistik yang berkolonisasi di permukaan kulit dan mukosa individu. 30-50% bakteri tersebut berkolonisasi pada individu yang sehat dan sepuluh sampai dua puluh persennya menetap secara persisten pada individu itu. Pada bakteri *Escherichia coli* sering terdapat pada makanan. Bakteri tersebut dapat mengkontaminasi makanan sehingga menyebabkan diare atau sakit perut apabila makanan tersebut dikonsumsi oleh manusia. Upaya untuk mencegah dan mengobati diare

saat ini adalah dengan cara pemberian obat. Pemberian obat secara terus-menerus dapat menyebabkan bakteri resisten terhadap obat atau antibakteri[3].

Oleh karena itu, diperlukan penelitian untuk mencari tahu kandungan dari berbagai tanaman yang dapat dijadikan sebagai obat tradisional dengan tujuan memberikan penjelasan secara ilmiah mengenai komponen aktif yang dikandung oleh tumbuhan tersebut dan efek fisiologisnya.

Puring *(Coadieum variegatum)* merupakan tanaman hias yang banyak diminati dan diusahakan untuk dibudidaya agar mendapatkan bentuk baru yang eksotik. Puring sangat menarik untuk diteliti karena puring juga digunakan sebagai obat antifungal, antikanker, obat diare berdarah, dan obat penahan rasa sakit. Selain itu, puring merupakan flora antipolusi yang mampu menyerap polutan berbahaya seperti timbal (Pb)[4].

Penelitian sebelumnya sangat sedikit yang meneliti kandungan dari daun puring, oleh karena itu penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktifitas antibakteri dan antijamur untuk mengetahui seberapa kuat senyawa pada daun puring ini untuk menghambat bakteri dan jamur tersebut[5].

2. Metodologi Penelitian

2.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Desember 2017 hingga April 2018 di Laboratorium Kimia Organik Bahan Alam Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Andalas Padang.

2.2 Alat

Alat yang digunakan adalah alat gerinda, neraca analitik dan teknis, seperangkat alat distilasi, maserator (botol gelap) untuk maserasi, beberapa peralatan gelas, lampu spiritus, *rotary evaporator*, lampu UV 365 nm, oven, kertas saring, tisu, botol vial, alumunium foil, peralatan gelas yang umum digunakan dalam laboratorium. Pengerjaan uji aktivitas antimikroba digunakan *magnetic stirer* (Corning PC-42000), *magnetic bar*, inkubator (Gallenkamp), *test tube*, *autoclave*, cawan petri, mikropipet (Nichipet Ex), jarum ose, kertas cakram, spiritus, kain kasa, kapas, penggaris, *laminar air flow* (Aneka Lab H.S 079S).

2.3 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah pelarut teknis yang telah didistilasi yaitu n-heksana, etil asetat, dan etanol. Bahan yang digunakan untuk uji fitokimia adalah pereaksi Mayer untuk identifikasi alkaloid, pereaksi Liebermann-Burchad untuk identifikasi triterpenoid dan steroid, Sianidin test untuk identifikasi flavonoid, ferri klorida untuk identifikasi fenolik, natrium hidroksida, etanol dan akuades untuk identifikasi kumarin. Untuk uji antimikroba digunakan bakteri Gram positif (*Staphyllococcus aureus*) dan bakteri Gram negatif (*Eschericia coli*) dan untuk uji antijamur digunakan jamur *Candida albicans* yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi UNAND. Untuk uji antibakteri digunakan kontrol positif *amoxcillin,* media MHA (*Mueller-Hinton Agar*), media NA (*Nutrient Agar*), alkohol 70% dan NaCl 0,9% sedangkan untuk uji antijamur digunakan kontrol positif nystatin dan NaCl 0,9%.

2.4 Prosedur Penelitian

2.4.1 Persiapan Sampel

Sampel diperoleh dari daerah kecamatan Lubuk Alung, kabupaten padang Pariaman, provinsi Sumatera Barat. Sampel diambil dan dianalisis taksonomi di Herbarium Universitas Andalas (ANDA) Jurusan Biologi, Fakultas MIPA Universitas Andalas. Bagian yang diuji adalah daun yang dikering anginkan pada udara terbuka, tidak terkena cahaya matahari secara langsung dan dihaluskan menjadi bubuk, kemudian ditimbang.

2.4.2 Persiapan Pelarut

Pelarut yang digunakan pada penelitian ini adalah pelarut teknis yang telah didistilasi. Pelarut yang digunakan adalah n-heksana, etil asetat dan etanol.

2.4.3 Uji Fitokimia Tanaman Puring

Uji fitokimia bertujuan untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder yang terkandung didalam dalam sampel. Metabolit sekunder yang diuji yaitu senyawa flavonoid, alkaloid, saponin, triterpenoid, steroid, kumarin dan senyawa fenolik

2.4.3.1 Pemeriksaan flavonoid, fenolik dan saponin

Daun puring sebanyak 3 gram diekstraksi dengan menggunakan pelarut etanol. Kemudian hasil ekstraksi diambil dan dimasukkan ke dalam 3 tabung reaksi, masing-masingnya sebanyak 2 mL. Pada tabung reaksi pertama ditambahkan beberapa tetes HCl pekat dan beberapa butir bubuk Mg. Jika menghasilkan warna jingga sampai merah maka menunjukkan positif flavonoid[6]. Pada tabung reaksi kedua ditambahkan larutan besi (III) klorida, jika menghasilkan warna biru sampai hijau pekat menunjukkan positif fenolik[7]. Pada tabung reaksi ketiga, ekstrak di dalam tabung dikocok beberapa saat, jika terbentuk busa dan tidak hilang saat penambahan asam klorida maka menunjukkan positif saponin[7].

2.4.3.2 Pemeriksaan Triterpenoid dan Steroid

Ekstrak sebanyak 2 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan akuades dan kloroform (1:1) dan dibiarkan sampai terbentuk bidang batas. Pemeriksaan triterpenoid dan steroid dilakukan pada lapisan kloroform. Kemudian lapisan kloroform dimasukkan ke dalam 3 lubang pada plat tetes dan dibiarkan mengering. Pada lubang pertama dan kedua ditambahkan anhidrida asetat dan asam sulfat 2N, dan pada lubang yang tidak ditambahkan reagen digunakan sebagai pembanding. Terbentuknya endapan berwarna merah bata akan menunjukkan positifif terpenoid sedangkan warna hijau biru menunjukkan positif steroid[7].

2.4.3.3 Pemeriksaan alkaloid

Permeriksaan alkaloid dilakukan dengan diambill ekstrak sebanyak 2 mL ditambahkan 2 mL kloroform, kemudian ditambahkan 10 mL kloroform-amoniak 0,05 M dan diaduk. Filtrat sebanyak 2 mL diambil dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 2 mL asam sulfat 2N, dikocok, dan didiamkan sejenak sampai terbentuk dua lapisan yaitu lapisan asam dan kloroform. Lapisan asam sulfat diambil dengan menggunakan pipet dan pindahkan ke dalam tabung reaksi lain kemudian ditambahkan beberapa tetes pereaksi Mayer. Terbentuknya endapan putih menunjukkan positif alkaloid[7].

2.4.3.4 Pemeriksaan kumarin

Ekstrak etanol ditotolkan pada plat KLT dengan menggunakan pipa kapiler dan dielusi dengan n-Heksana : etil asetat (8:2). Dilakukan fluorisensi di bawah lampu UV pada panjang gelombang 365 nm dan 254 nm, kemudian disemprotkan larutan NaOH 1% noda pada plat KLT dan dilakukan pengamatan kembali dengan lampu UV. Adanya senyawa kumarin ditandai dengan fluoresensi biru terang.

2.4.4 Ekstraksi dan Fraksinasi

Sampel daun puring *(Codiaeum variegatum* (L) Rumph) segar dikering anginkan, untuk memperoleh sampel kering dalam bentuk serbuk. Sampel yang telah dikering anginkan, diekstrak dengan cara maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 96%. Maserasi ini dilakukan dengan di masukkan 250 gram sampel ke dalam tiap maserator dengan pelarut etanol sebanyak 2,5 L. Setelah dimaserasi selama 3 x 24 jam pada suhu kamar, dilakukan penyaringan terhadap sampel. Ekstrak kental etanol yang telah diperoleh diambil sebagian untuk difraksinasi dengan n-heksana, etil asetat dan air secara berturut-turut. hasil ekstrak yang didapatkan, dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator*.

2.4.5 Uji Aktivitas Antibakteri

2.4.5.1 Pembuatan Media NA

Media NA (*nutrient agar*) sebanyak 2 g kemudian dimasukkan ke dalam erlenmeyer 250 mL, ditambah 100 mL akuades, lalu dipanaskan dan diaduk menggunakan *magnetic stirer* sampai mendidih dan larut dengan sempurna. Media NA yang terdapat di dalam erlenmeyer dituangkan ke dalam tabung reaksi (sepertiga bagian tabung) kemudian dimiringkan 30^0 dan ditunggu padat.

2.4.5.2 Pembuatan Media MHA

Media MHA (*Mueller-Hinton Agar*) ditimbang sebanyak 9,75 gram dan dilarutkan didalam 250 mL akuades. setelah itu, dipanaskan diatas *hot plate* dan diaduk menggunakan *magnetic stirer* sampai mendidih dan larut dengan sempurna. Larutan MHA disterilkan di dalam autoklaf pada temperatur 121^{o}C selama 15 menit. Selanjutnya, media MHA dituangkan ke dalam cawan petri

dan dibiarkan memadat di dalam *laminar flow.*

2.4.5.3 Pembuatan Larutan Uji
Ditimbang sampel (ekstrak etanol, etil asetat, n-heksana dan etanol-air) sebanyak 100 mg dan dilarutkan didalam labu 100 mL dengan pelarut masing-masing sampai tanda batas dan diperoleh konsentrasi larutan induk 1000 mg/L. Larutan uji dibuat dengan beberapa variasi konsentrasi dengan menggunakan metode pengenceran bertingkat yaitu konsentrasi 1000, 500, 250, 125, 62,5, dan 31,25 mg/L.

2.4.5.4 Pembuatan Suspensi Bakteri Uji
Diambil koloni bakteri dari biakan murni dengan menggunakan jarum ose untuk dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang telah berisi 200 µL garam fisiologis (NaCl 0,9%).

2.4.5.5 Pengujian Aktivitas Antibakteri
Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi cakram. Bakteri uji 200 µL diambil dan dituangkan ke dalam media MHA yang telah padat didalan cawan petri, kemudian diratakan dan didiamkan hingga kering selama 15 menit di dalam *laminar flow.* Kertas cakram steril dicelupkan ke dalam larutan uji, kemudian diletakkan diatas permukaan media MHA dan diinkubasi pada suhu ruang selama 24 jam.

2.4.6 Uji Aktivitas Antijamur
2.4.6.1 Pembuatan Media PDA
Ditimbang media PDA (*Potato Dextrose Agar*) sebanyak 19,5 g serbuk dilarutkan dengan 500 mL air dalam erlenmeyer dan diletakkan di atas *hotplate* dan *magnetic stirer* hingga mendidih dan diperoleh larutan yang jernih. Media ini kemudian disterilisasi di dalam autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit.

2.4.6.2 Peremajaan Biakan Murni
PDA dilarutkan dalam 200 ml aquadest di dalam erlenmeyer yang kemudian dipanaskan di atas hot plate sampai mendidih, kemudian didapatkan larutan jernih. Larutan jernih tersebut dituangkan ke dalam beberapa tabung reaksi yang telah disterilkan (*autoclave*) selama 15 menit pada suhu 121^{0}C. Kemudian media dimiringkan 30^0 dan dibiarkan mengeras. Diambil biakan murni koloni jamur yang tersedia secara aseptik dengan jarum ose, kemudian digoreskan pada media agar miring lalu diinkubasi di dalam inkubator.
2.4.6.3 Pembuatan Larutan Uji
Ditimbang sebanyak 100 mg sampel (ekstrak etanol, etil asetat, n-heksana dan etanol-air) dan dilarutkan dalam labu 100 mL dengan pelarut masing-masing sampai tanda batas. Dibuat konsentrasi larutan induk 1000 mg/L. Kemudian dibuat larutan uji dengan beberapa variasi konsentrasi menggunakan metode pengenceran bertingkat yaitu konsentrasi 1000, 500, 250, 125, 62,5, dan 31,25 mg/L.

2.4.6.4 Pembuatan Suspensi Jamur Uji
Biakan *Candida albicans* dalam media agar miring disuspensikan dengan 5 mL NaCl. Kemudian diambil 0,5 mL ke dalam media pembenihan.

2.4.6.5 Penentuan Aktivitas Antijamur
Pengujian aktivitas antijamur dilakukan dengan metode difusi sumur. Media PDA yang telah diinokulasikan suspensi *Candida albicans* dituangkan ke dalam petri dan dibiarkan selama 5-15 menit supaya suspensi jamur dapat meresap ke dalam media. Selanjutnya dibuat lubang pada media PDA dengan menggunakan pipet yang telah disterilkan. Kemudian diletakkan kapas yang telah dicelupkan ke dalam masing-masing ekstrak ke dalam lubang pada media PDA yang telah diatur sedemikian rupa sehingga terdapat daerah yang baik untuk mengamati zona hambat yang terjadi. Sehingga terbentuk lubang yang akan digunakan untuk larutan uji, larutan kontrol positif (+) dan larutan kontrol negatif (-).Diinkubasikan dalam inkubator pada suhu 37^{0}C selama 1x24 jam. Diamati zona hambat yang terjadi di sekitar sumuran kemudian diukur diameter zona hambat secara horizontal dan vertikal dengan menggunakan penggaris berskala.

3. Hasil dan Pembahasan

3.1 Uji Fitokimia Daun Puring
Berdasarkan data uji metabolit sekunder diketahui bahwa sampel segar daun puring mengandung beberapa senyawa metabolit sekunder yaitu flavonoid, fenolik, saponin, steroid, triterpenoid dan alkaloid. Perbedaan kandungan metabolit sekunder ditunjukkan oleh fraksi etil,

fraksi heksan dan fraksi air. Pada fraksi etil terdapat beberapa senyawa metabolit sekunder yaitu flavonoid, fenolik dan triterpenoid. Pada Fraksi n-heksana diperoleh senyawa metabolit sekunder triterpenoid dan steroid, sedangkan pada fraksi air terdapat senyawa metabolit sekunder flavonoid dan fenolik.

3.2 Ekstraksi dan Fraksinasi

ekstrak etanol dari daun puring diperoleh sebanyak 338.299 gram, ekstrak ini diperoleh setelah melakukan perendaman (maserasi) sebanyak 9 kali. Kemudian digunakan sebagian dari ekstrak etanol untuk dilakukan fraksinasi. Pada fraksi n-heksana ekstrak yang didapatkan sebanyak 13,339 gram, jumlah ini didapatkan dengan melakukan 4 tahap fraksinasi dimana setiap tahapnya difraksinasi sebanyak 7 kali. Sedangkan pada fraksi etil asetat didapatkan ekstrak sebanyak 4,207 gram dengan 4 tahap fraksinasi dan setiap tahapannya dilakukan fraksinasi sebanyak 4 kali dan pada fraksi air didapatkan ekstrak sebanyak 2,035 gram yang dilakukan dengan 1 kali fraksinasi karena larutan yang diperoleh tidak pekat karena merupakan sisa-sisa dari hasil fraksinasi sebelumnya dan fraksi ini sangat mudah berjamur sehingga hanya sedikit didapatkan ekstrak kental. Fraksi-fraksi yang telah didapatkan diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator*. Ekstrak etanol diperoleh lebih banyak karena disebabkan oleh pelarut etanol yang dapat mengekstrak senyawa dengan tingkat kepolaran yang berbeda-beda. Ekstrak kental yang diperoleh dari maserasi dan fraksinasi dilakukan uji aktivitas antibakteri dan antijamur.

3.3 Pengujian aktivitas Antibakteri

Tabel 1. Hasil uji antibakteri

Ekstrak	**Konsentrasi (mg/L)**	**Diameter Zona Bening (mm)**	
		E. coli	***S. aureus***
Fraksi n- heksan	1000	7,5	13
	500	7	12
	250	6,5	9
	125	6,5	8
	62,5	6,3	8,5
	31,25	6	7
Fraksi etil asetat	1000	8	13,5
	500	7,5	9
	250	7,3	8
	125	7,3	8
	62,5	7	7,8
	31,25	6,5	7,3
Fraksi etanol-air	1000	7,3	10
	500	7	9,3
	250	6,5	9
	125	6,8	8,8
	62,5	6,3	8,5
	31,25	6	-
Ekstrak etanol	1000	8	10
	500	6,8	9
	250	6,3	6,3
	125	-	6,5
	62,5	-	-
	31,25	-	-
Kontrol negatif (-)	-	0,0	0,0
Kontrol positif (+)	31,25	7,5	17

zona hambat yang terbentuk di sekitar cakram yang diberi ekstrak daun puring menunjukkan kandungan yang terdapat pada daun puring mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Pada tabel menunjukkan bahwa aktivitas antibakteri optimum terdapat pada ekstrak etanol

dan fraksi etil asetat dengan konsentrasi yang sama besar (1000 mg/L) dengan zona inhibisi yaitu sebesar 8 mm untuk bakteri *Escherichia coli*. Sedangkan pada bakteri *Staphylococcus aureus* diperoleh zona inhibisi sebesar 13,5 mm yang terdapat pada fraksi etil asetat.

Fraksi etil asetat menunjukkan hasil yang lebih baik karena mengandung tiga jenis metabolit sekunder yaitu flavonoid, triterpenoid dan fenolik. Flavonoid merupakan kelompok senyawa fenol yang mempunyai kecenderungan untuk mengikat protein, sehingga mengganggu proses metabolisme. Senyawa flavonoid juga merupakan senyawa antibakteri yang mempunyai kemampuan mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak membran sel. Mekanisme penghambatannya dengan cara merusak dinding sel yang terdiri atas lipid dan asam amino yang akan bereaksi dengan gugus alkohol pada senyawa flavonoid. Senyawa flavonoid mampu membentuk senyawa kompleks dengan protein melalui ikatan hidrogen sehingga struktur tersier protein terganggu, dan protein tidak dapat berfungsi lagi sehingga terjadi kerusakan/denaturasi protein dan asam nukleat. Denaturasi tersebut menyebabkan koagulasi protein serta mengganggu metabolisme dan fungsi fisiologis bakteri[8].

Senyawa terpenoid mempunyai kemampuan dalam menghambat bakteri. Mekanisme penghambatan senyawa terpenoid sebagai antibakteri adalah bereaksi dengan porin pada membran luar dinding sel bakteri dan membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga mengakibatkan rusaknya porin. Rusaknya porin mengakibatkan masuknya senyawa yang akan mengurangi permeabilitas dinding sel bakteri sehingga sel bakteri akan kekurangan nutrisi dan pertumbuhan bakteri terhambat atau mati[9].

Senyawa fenol memiliki aktivitas sebagai antibakteri yang bekerja dengan cara berinteraksi dengan sel bakteri melalui proses absorpsi yang melibatkan ikatan Hidrogen, Ikatan hidrogen tersebut akan mempengaruhi permeabilitas dinding sel dan membran sitoplasma sebab keduanya tersusun atas protein termasuk diantaranya mengganggu transpor aktif dan kekuatan proton. Permeabilitas dinding sel dan membran sitoplasma yang terganggu dapat menyebabkan ketidakseimbangan makromolekul dan ion dalam sel, sehingga sel menjadi lisis[10].

Hasil zona bening yang terdapat pada kedua bakteri menunjukkan perbedaan yang disebabkan karena adanya perbedaan komposisi kimiawi dinding sel pada kedua bakteri. Pada bakteri gram positif memiliki struktur dinding sel yang relatif sederhana dengan lebih banyak peptidoglikan, sedikit lipid dan dinding sel mengandung polisakarida (asam teikoat).

Sedangkan pada bakteri gram negatif lebih banyak mengandung lipid, sedikit peptidoglikan, membran luar berupa bilayer yang berfungsi sebagai pertahanan selektif senyawa-senyawa yang keluar atau masuk sel dan menyebabkan efek toksik[7].

Tetapi pada ekstrak etanol di bawah konsentrasi 500 mg/mL tidak terdapat zona inhibisi pada bakteri *Escherichia coli*, begitu juga pada bakteri *Staphylococcus Aureus* tidak terdapat zona inhibisi pada ekstrak etanol dibawah konsentrasi 125 mg/mL. Hal ini dapat disebabkan karena pada ekstrak etanol masih terdapat campuran senyawa yang bersifat polar, semipolar dan non-polar yang belum terpisah sepenuhnya sehingga dapat mengakibatkan tidak efektifnya dalam menghambat pertumbuhan bakteri.

3.4 Pengujian Aktivitas Antijamur

Aktivitas antijamur tergantung dari adanya ikatan dengan sterol pada membran sel jamur atau ragi terutama sekali ergosterol[2]. sedangkan untuk kontrol negatif digunakan masing-masing pelarut yaitu etanol, etil asetat, n-heksan yang telah didistilat.

Tabel 2. Hasil uji aktivitas antijamur

Konsentrasi larutan uji (mg/L)	Zona Hambat (mm)			
	EE	EA	FH	FA
1000	2	4,5	2,2	2,1
500	2	4,9	1,3	2
250	1,3	3,5	1,2	2
125	1,5	2,5	1,1	1
62,5	1	1,3	0,7	0,8
31,25	0,5	1,1	0,7	0,7
Kontrol positif (nystatin)	22	25	22	23
Kontrol negatif	-	-	-	-

4. Kesimpulan

Senyawa metabolit sekunder yang didapatkan dari hasil uji fitokimia dari ekstrak daun puring ialah flavonoid, fenolik, triterpenoid, dan steroid. Berdasarkan hasil uji antibakteri dari ektsrak etanol, fraksi etil asetat, fraksi n-heksana dan fraksi etanol-air merupakan ektsrak aktif yang memiliki aktivitas antibakteri, begitupun dengan hasil uji antijamur pada ekstrak daun puring yang membuktikan bahwa ekstrak daun puring memiliki potensi sebagai antijamur. Zona inhibisi pada bakteri lebih besar dibandingkan zona inhibisi pada jamur hal ini disebabkan karena jamur memiliki komponen sel yang lebih banyak sedangkan bakteri merupakan sel yang sangat sederhana.

5. Ucapan Terimakasih

Terimakasih kepada Analis dan teman-teman Laboratorium Kimia Organik Bahan Alam Jurusan Kimia Universitas Andalas yang telah mebantu penulis dalam menyelesaikan penelitian ini.

Referensi

[1] Baud, Grace, S., Meiske, S. Sangi., Harry, S. J. Koleangan, Analisis senyawa metabolit sekunder dan uji toksisitas ekstrak etanol batang tanaman patah tulang (*Euphorbia tirucalli* L.) dengan metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT), *Jurnal Ilmiah Sains,* 2014,107-112.

[2] Sari, Evi Rosyida., Nugraheni, Estu Retnaningtyas, Uji aktivitas antifungi ekstrak etanol daun cabai jawa (*Piper retrofractum*) terhadap pertumbuhan candida albicans. *Jurnal Biofarmasi* 2013, (11) 2. 36-42.

[3] Mardiah, Uji Resistensi *Staphylococcus aureus* Terhadap Antibiotik, Amoxillin, Tetracyclin dan Propolis. *Jurnal Ilmu Alam dan Lingkungan*, 2017, (8) 16. 1-6

[4] Ogunwenmo, K, Olusula., dkk., Cultivars Of *Codiaeum Variegatum* (L.) Blume (*Euphorbiaceae*) Show Variability In Phytochemical And Cytological Characteristics, *Journal of Biotechnology,* 2007, 6 (20), 2400-2405

[5] Marliana, S.D., Suryanti V. dan Suyono, Skrining Fitokimia dan Analisi Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechium edule* Jacq. Swartz.) dalam Ekstrak Etanol. *Biofarmasi* 2005, Vol. 3 No. 1 : 26-31

[6] Sangi, M., Runtuwene M. R. J., Simbala H. E. I. dan Makang V. M. A. Analisis Fitokimia Tumbuhan Obat di Kabupaten Minahasa Utara. *Chem. Prog*. 2008. Vol. 1 No. 1: 47-53.

[7] Aswarita, Rika., Interaksi Ekstrak Daun Lidah Buaya (Aloe Vera L.) Dan Daun Jambu Biji (Psidium Guajava L.) Terhadap Daya Hambat Escherichia Coli Secara In Vitro, *Jurnal EduBio Tropica,* 2013, 1 (2), 61-120.

[8] Heni., Arreneuz, Savante, dan Zaharah, Titin Anita, Efektivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Belimbing Hutan (*Baccaurea Angulata* Merr.) Terhadap *Staphylococcus aureus* Dan *Escherichia coli. Jurnal JKK*, 2015, (4) 1. 84-90.

[9] Gunawan, I W. G., Bawa, I G. A.G. dan Sutrisnayanti, N.L, Isolasi dan Identifikasi Senyawa Terpenoid Yang Aktif Antibakteri Pada Herba Meniran (*Phyllanthus niruri* Linn). *Jurnal Kimia*, 2008. 2 (1) : 31-39.

[10] Putra, Affian, Huda atama., Corvianindya, Yani., Wahyukundari, Melok, Aris, Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kamboja Putih (*Plumeria acuminata*) Terhadap Pertumbuhan *Streptococcus* mutans. *Jurnal Pustaka Kesehatan,* 2017, 5 (3) : 449 – 453

PEMBUATAN KITOSAN DARI KULIT PENSI (*Corbicula moltkiana*) SERTA UJI SIFAT FISIKA DAN KIMIANYA

Yulizar Yusuf*, Vicya Merry F., Safni

Laboratorium Kimia Analisis Terapan, Jurusan Kimia,
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Andalas,
Kampus Limau Manis, 25163, Indonesia
*Email: yulizaryusuf59@gmail.com

Abstract: Chitosan is the deacetylation product of chitin which are found on shell of crustaceae such as crabs and mussel. A type of mussel that can be found easily in West Sumatera is call pensi. Pensi (*Corbicula moltkiana*) shell is the part of pensi that usually being wasted. Isolation process from chitin into chitosan can do by several stages that is deproteination (separation of protein), demineralization (separation of mineral), depigmentation (disappearance of colour). That stages result the chitin. Chitin then do deacetylated until becoming chitosan. Deproteination process was used 5% NaOH solution, demineralization used 1N HCl solution, and depigmentation was used acetone to remove dyes on chitosan. The deacetylation process used a high concentration base solution of 60% NaOH at 100ºC for 4 hours. The chitosan obtained being characterized and analyzed by several parameters, such as water content (3.72%), ash (82.8%), lipid free test (no purple color), ninhydrin test (purple form), solubility (soluble in 2% acetic acid), and the determination of functional groups using *Fourier Transform Infra Red* (FTIR).

Keywords: Pensi, waste of pensi shell, chitin, chitosan, FTIR

1. Pendahuluan

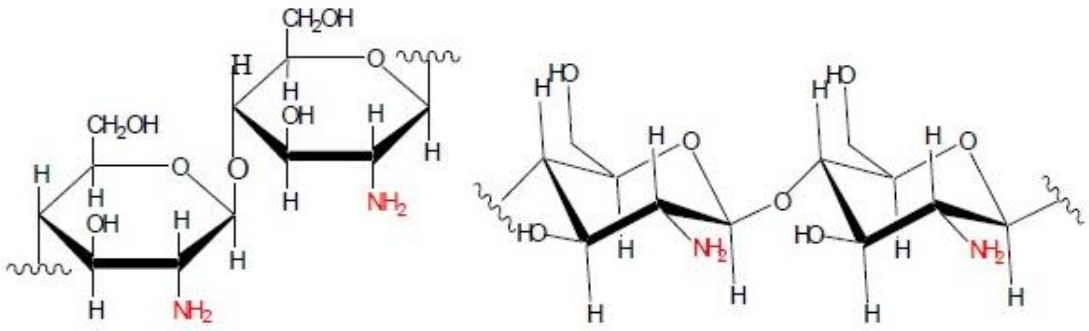
Secara umum, $CaCO_3$ merupakan senyawa utama yang ditemukan pada kulit invertebrata air termasuk pensi. Menurut penelitian terhadap kulit pensi (*Corbicula moltkiana*), diketahui bahwa kulit pensi berpotensi sebagai sumber kalsium dengan kandungan Ca sekitar 26-30 % dalam bentuk mentah. Struktur penyusun kulit pensi setelah dilakukan penelitian oleh Suci Wahyuni menggunakan XRF yaitu mengandung Ca 93,207%, Si 2,144%, Al 1,322%, Ag 0,775%, Mg 0,69%, P 0,491%, dan Fe 0,248% [1]. Sedangkan kandungan kitin pada kulit remis atau kijing, dimana pensi merupakan hewan *crustacea* sejenis kijing yaitu kandungan kitin yang terkandung di dalamnya adalah 6,1% [2]. Dari data tersebut, maka dilakukanlah penelitian ini untuk menghasilkan kitosan dari kulit pensi.

Kitin merupakan bahan organik utama terdapat pada kelompok hewan *crustaceae*, insekta, fungi, *mollusca* dan *arthropod* [3]. Kitin merupakan salah satu sumber alam polisakarida yang terbesar jumlahnya setelah selulosa. Kitin adalah suatu polimer anhidro N-asetil-d-glukosamin, mempunyai massa molekul relative besar yaitu sekitar $1{,}2.10^6$ gram/mol. Kitin memiliki rumus pengikatan zat-zat organik maupun anorganik oleh kitosan. Hal ini yang menyebabkan kitosan lebih banyak manfaatnya dibanding dengan kitin [8]. kimia $(C_8H_{13}NO_5)_n$. dengan struktur [β-(1→4)-2-asetamida-2-deoksi-D-glukosa] didapat dari isolasi kulit dan kepala hewan berkulit keras (*Crustacea*) [4]. Karena strukturnya yang linier, kitin memiliki kristalinitas yang tinggi dan digunakan sebagai *nanofiber*. *Nanofiber* (NF) pada dasarnya tertanam dalam matriks protein. Karena kulit kepiting dan udang juga memiliki struktur kompleks yang terdiri dari *nanofiber*, diharapkan *nanofiber* kitin bisa disiapkan dengan desintegrasi mekanik [5]. Tiga polimer kitin yang berbeda ditemukan di alam yaitu α-kitin, β-kitin dan γ-kitin [6].

Kitosan adalah polisakarida yang banyak terdapat di alam setelah selulosa. Kitosan merupakan senyawa poli (N-amino-2-deoksi-β-D-glukopiranosa) atau glukosamin hasil deasetilasi kitin yang diproduksi dalam jumlah besar di alam [7]. Kitosan tidak larut dalam air dan H_2SO_4, sedikit laut dalam HCl, dan HNO_3. Kitosan juga dapat membentuk sebuah membran yang berfungsi sebagai adsorben pada waktu terjadinya

Kitosan sangat berpotensi untuk dijadikan sebagai bahan antimikroba, karena mengandung enzim lisosim dan gugus aminopolisakarida yang dapat mengahambat pertumbuhan mikroba dan efisiensi daya hambat kitosan terhadap bakteri tergantung dari konsentrasi pelarutan kitosan [11].

FTIR merupakan salah satu instrumen yang menggunakan prinsip spektroskopi [9]. Spektrofotometer *Fourier Transform Infrared* (FTIR) adalah salah satu instrumen yang dapat digunakan untuk identifikasi mineral secara kualitatif dan mulai dikembangkan untuk identifikasi secara kuantitatif [10]. Spektrum sidik jari FTIR yang dihasilkan merupakan informasi data yang sangat kompleks sehingga akan menggambarkan secara menyeluruh karakteristik kimia suatu bahan. Perubahan yang terjadi pada posisi pita dan intensitasnya dalam spectrum FTIR akan berhubungan dengan perubahan komposisi kimia dalam suatu bahan [12].



Gambar 1.1 Struktur kitosan [Kusumaningsih].

2. Metodologi Penelitian

2.1 Alat

Hot plate, timbangan analitis, oven, *furnace*, aluminium foil, gelas piala, kaca arloji, gelas ukur, labu ukur, batang pengaduk, pipet takar, krus porselen, termometer, stirer, pipet tetes, tabung reaksi, corong, labu semprot, spatula, kertas saring, kertas pH universal, dan spektrofotometer *Fourier Transform Infrared* (Perkim Elmer, Spesifik Fronteir).

2.2 Bahan

Bubuk kulit pensi, akuades, NaOH (Natrium Hidroksida) teknis, HCl (asam klorida) pa (Pudak Scientific), aseton (CH_3COCH_3) teknis, CH_3COOH (asam asetat) pa (Merck), $CuSO_4.5H_2O$ (tembaga(II)sulfat pentahidrat) (Merck), dan ninhidrin ($C_9H_6O_4$).

2.3 Persiapan Sampel

Sampel yang digunakan adalah limbah dari kulit pensi yang diperoleh dari Pasar Bandar Buat Padang yang terlebih dahulu dibersihkan dan dicuci dengan akuades yang bertujuan untuk membersihkan sisa-sisa kotoran yang menempel pada limbah kulit pensi tersebut. Kulit pensi yang telah dibersihkan kemudian dikering anginkan selama ±1 minggu. Dalam penelitian ini, kulit pensi yang telah kering dihaluskan dan diayak dengan ukuran 425 µm.

2.4 Prosedur Kerja

2.4.1 Pembuatan kitin dari kulit pensi

a. Pemisahan protein (deproteinasi)

Bubuk kulit pensi ditimbang sebanyak 10 gram dan dideproteinasi dengan cara direndam dalam larutan NaOH 5% (w/v 1:10) lalu dipanaskan diatas penangas air pada suhu 65°C selama 2 jam. Sampel dicuci dengan akuades sampai pH netral lalu disaring dan dikeringkan dalam oven pada suhu 50°C sehingga didapatkan residu bebas protein.

b. Pemisahan mineral (demineralisasi)

Residu bebas protein didemineralisasi dengan cara direndam dalam larutan HCl 1 N (w/v 1:10) sambil distrirer selama 30 menit pada suhu ruangan,. Residunya disaring dan dicuci dengan akuades hingga pH netral, kemudian dikeringkan dalam

oven pada suhu 50°C, sehingga didapatkan kitin kasar.

c. Penghilangan warna (depigmentasi)
Kitin yang diperoleh diekstraksi dengan aseton (w/v 1:10) selama 1 jam. Residu didalam oven pada suhu 50°C selama ± 4 jam.

2.4.2 Deasetilasi kitin menjadi kitosan
Kitin yang diperoleh dideasetilasi dengan cara direndam dalam larutan NaOH 60% (w/v 1:20) kemudian dipanaskan pada suhu 100°C selama 4 jam, sambil diaduk dengan stirrer. Kitosan yang dihasilkan disaring dan dicuci dengan akuades dengan pH netral. Kitosan dikeringkan dalam oven pada suhu 50°C selama ± 5 jam. Selanjutnya kitosan yang diperoleh ditimbang.

2.4.3 Karakterisasi kitosan hasil isolasi secara fisika-kimia
a. Penentuan kadar air
Kitosan sebanyak 0,5 gram ditimbang dan ditempatkan dalam cawan, kemudian dipanaskan dalam oven temperatur 105°C selama 2 jam, didinginkan dalam desikator dan ditimbang. Dilakukan beberapa kali sampai pengurangan berat antara 2 kali penimbangan berturut-turut lebih kecil dari 0,001 gram.

$$\text{Kadar air} = \frac{W1-W2}{W1-W0} \times 100\%$$

Dimana :
W_0 = berat cawan (g)
W_1 = berat cawan dan sampel sebelum dipanaskan (g)
W_2 = berat cawan dan sampel setelah dipanaskan (g)

b. Pengujian kadar abu
Kadar abu kitosan ditentukan dengan pembakaran menggunakan krus porselen (cawan pengabuan) berat konstan dimasukkan kedalam *furnace* kemudian dipanaskan, lalu didinginkan didalam desikator dan ditimbang. Sampel sebanyak 1 gram dimasukkan kedalam krus porselen, dimasukkan kedalam *furnace* pada suhu 550°C ± 20°C sampai diperoleh abu berwarna putih keabuan (selama 4 jam), didinginkan 60 menit dalam desikator dan ditimbang sampai berat konstan. Kadar abu ditentukan sebagai berikut :

$$\text{Kadar abu} = \frac{Wa-Wc}{Ws-Wc} \times 100\%$$

disaring dan dicuci dengan akuades hingga mendekati pH netral, kemudian dikeringkan
Keterangan :
Wa = berat cawan dan abu (g)
Wc = berat cawan kosong (g)
Ws = berat cawan dan sampel (g)

c. Uji bebas protein
Uji bebas protein ditentukan secara kualitatif dengan metode Biuret menggunakan larutan $CuSO_4$, jika tidak terbentuk warna ungu maka kitosan bebas protein.

d. Uji ninhidrin
Kitosan yang diperoleh ditimbang sebanyak 0,05 gram dan dimasukkan kedalam tabung reaksi kemudian dimasukkan larutan ninhidrin lalu didiamkan selama ± 10 menit. Diamati perubahan yang terjadi, jika sampel berubah warna menjadi ungu maka pada sampel terdapat gugus amina.

e. Pengukuran serapan FTIR
Kitosan ditimbang sebanyak 50 mg dan KBr 120 mg, dicampur dan digerus menggunakan *mortar* dan *stamfer* selama 10 menit. Dari campuran tersebut diambil 40 mg lalu dicetak hingga menjadi pellet KBr. Spektrum diukur menggunakan FTIR spektroskopi dengan pengukuran transmitan sebagai fungsi dari bilangan gelombang antara 4000-600 cm^{-1}, kemudian dengan kitosan standar.

3. Hasil dan Diskusi

3.1 Pembuatan Kitin dari Kulit Pensi

3.1.1 Deproteinasi

Deproteinasi bertujuan untuk memutus ikatan antara protein dan kitin, dengan cara menambahkan NaOH. Selama perendaman, protein terekstrak dalam bentuk Na-asam lemak (Na-proteanat) akibat reaksi saponifikasi antara lemak yang terkandung dalam kulit pensi dengan larutan NaOH panas, dimana ion Na^+ akan mengikat ujung rantai protein yang bermuatan negatif dan mengendap[1]. Saat deproteinasi, protein sulit dihilangkan karena kuatnya ikatan kimia antara kitin dengan protein.

3.1.2 Demineralisasi

Tujuan dari demineralisasi adalah untuk menghilangkan garam-garam organik atau

kandungan mineral yang terdapat pada kulit pensi. Proses ini dilakukan dengan menambahkan HCl, dimana kitin yang terbentuk akan dipisahkan dari mineral terutama $CaCO_3$ yang banyak terkandung didalam kulit pensi.

$2HCl_{(aq)} + CaCO_{3(s)} \rightarrow CaCl_{2(aq)} + H_2O_{(l)} + CO_{2(g)}$ [13]

Terbentuk banyak buih dan gelembung udara. Hal ini terjadi karena terbentuknya gas CO_2 dan H_2O dipermukaan larutan berdasarkan reaksi demineralisasi. Mineral lainnya yang terkandung dalam kulit pensi bereaksi dengan asam dan menjadi garam terlarut.

3.1.3 Depigmentasi

Kandungan zat warna pada kulit pensi dapat menurunkan mutu dari kitin. Untuk itu dilakukan proses depigmentasi dengan mengekstrak pigmen yang terdapat pada kulit pensi menggunakan pelarut organik. Pelarut organik yang dipakai pada proses ini adalah aseton. Perubahan warna yang terjadi pada saat proses depigmentasi tidak terlalu terlihat, dimana warnanya tetap.

3.2 Deasetilasi kitin

Reaksi deasetilasi lebih banyak menggunakan larutan alkali, hal ini dikarenakan ikatan glikosidik yang terkandung dalam kitin sangat rentan dengan adanya asam. Deasetilasi dilakukan untuk memutus ikatan antara gugus asetil ($-NHCOCH_3$) dengan atom nitrogen sehingga berubah menjadi gugus amina ($-NH_2$). Penggunaan larutan alkali dengan konsentrasi serta suhu tinggi selama proses deasetilasi dapat menghasilkan kitosan yang murni sehingga semakin baik mutu kitosan yang dihasilkan.

3.3 Karakterisasi Kitosan Hasil Isolasi Secara Fisika-Kimia

3.3.1 Penentuan kadar air dan kadar abu

Tabel 3.1 Kadar air dan kadar abu pada kitosan hasil isolasi

Parameter	Standar Internasional [14]	Kitosan yang didapatkan
Kadar air (%)	≤10	1,2
Kadar abu (%)	<1	82,8
Kadar kitosan (%)		0,74

Kadar air dari kitosan ditentukan berdasarkan metode gravimetri. Kadar air pada kitosan dipengaruhi oleh proses pengeringan, lamanya waktu pengeringan juga luas permukaan wadah yang digunakan untuk mengeringkan kitosan tersebut.

Penentuan kadar abu adalah indikator keefektifan tahap demineralisasi untuk menghilangkan mineral yang ada pada kulit pensi. Besarnya kadar abu dapat diakibatkan oleh proses demineralisasi pada kulit pensi tidak berlangsung dengan sempurna sehingga banyak mineral yang tersisa, juga masih adanya pengotor dari kitosan yang dihasilkan.

3.3.2 Uji bebas protein

Uji biuret digunakan untuk uji protein, karena uji ini dapat mendeteksi adanya ikatan peptida yang diperoleh hasil reaksi berupa warna ungu pada larutan yang menunjukkan adanya protein. Cu^{2+} (dari pereaksi biuret) dalam suasana basa bereaksi dengan polipeptida atau ikatan-ikatan peptida yang menyusun protein membentuk senyawa kompleks berwarna ungu. Hasil dari uji bebas protein didapatkan bahwa larutan tetap berwarna biru, hal ini menandakan bahwa kitosan yang terbentuk telah bebas protein.

3.3.3 Uji ninhidrin

Ninhidrin merupakan zat pengoksidasi kuat yang dapat bereaksi dengan amina (dari senyawa kitosan) pada pH 4-8 membentuk senyawa berwarna ungu [15]. Hasil penelitian yang dilakukan yaitu terjadi perubahan warna ungu, hal ini menandakan adanya gugus amina pada kitosan yang dihasilkan.

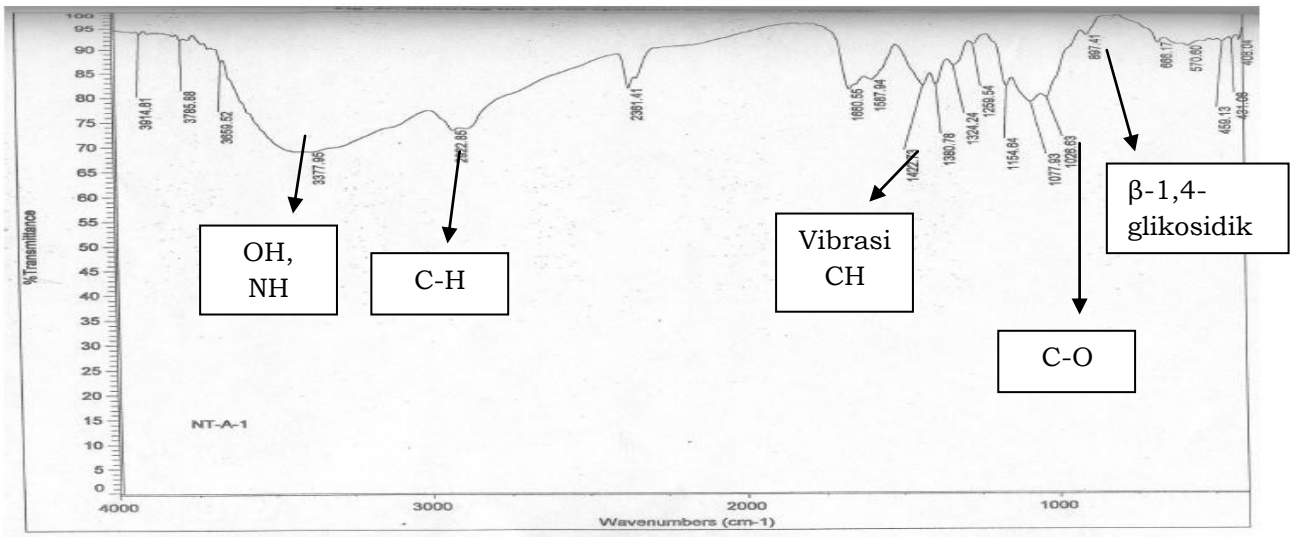
3.3.4 Uji kelarutan

Semakin tinggi kelarutan kitosan maka mutu kitosan yang dihasilkan semakin baik. Pengujian ini menggunakan larutan asam asetat glasial 2% (1:50). Hasil penelitian memperlihatkan bahwa kitosan larut dalam asam asetat. Hal ini menandakan bahwa hasil yang diperoleh dari proses isolasi adalah kitosan.

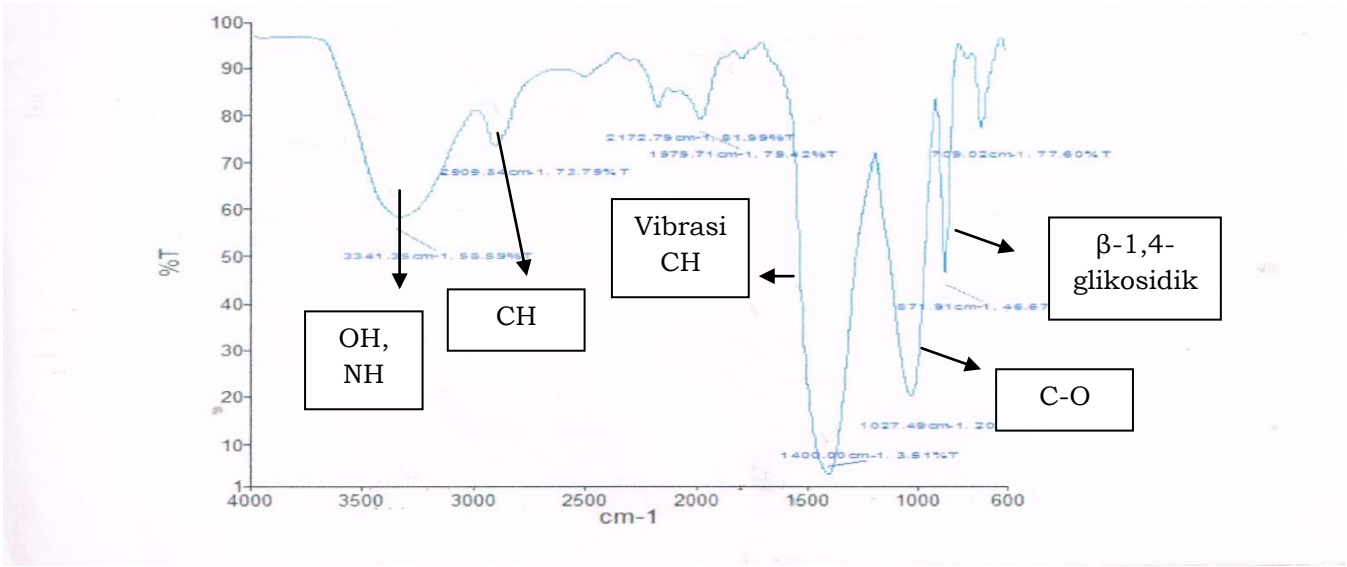
3.3.5 Pengukuran serapan FTIR

Spektrum kitosan menginformasikan adanya pita serapan pada bilangan gelombang 3341,35 cm^{-1} sebagai hasil dari vibrasi pembengkokan gugus OH dan NH. Pada kitosan standar juga terdapat serapan di bilangan gelombang 3377,95 cm^{-1}. Pita serapan pada 2909,84 cm^{-1} pada kitosan

hasil ekstraksi dan 2922,85 cm^{-1} pada kitosan standar menunjukkan adanya vibrasi peregangan simetris ikatan C-H. Sedangkan pada bilangan gelombang 1400,00 cm^{-1} menunjukkan adanya vibrasi tekuk pada ikatan C-H. Bilangan gelombang 1027,49 cm^{-1} menunjukkan adanya ikatan C-O yang merupakan salah satu serapan karakteristik polisakarida. Salah satu tanda bahwa senyawa kitosan adalah adanya vibrasi ulur pada daerah bilangan gelombang 871,91 cm^{-1} yang mengindikasikan adanya ikatan β-1,4-glikosidik. Pada spektrum kitosan standar juga menunjukkan adanya vibrasi ulur pada bilangan gelombang 897,41 cm^{-1}.



Gambar 3.1 Spektrum FTIR Kitosan Standar [5].



Gambar 3.2 Spektrum FTIR kitosan hasil isolasi.

4. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan maka dapat diambil kesimpulan bahwa kitosan telah berhasil diperoleh dari kulit pensi (*Corbicula moltkiana*) melalui beberapa tahap yaitu deproteinasi, demineralisasi, depigmentasi dan deasetilasi. Hasil analisis kitosan yang diperoleh dimana dilakukan pengujian antara lain kadar air 3,72%, kadar abu 82,8%, pada uji kelarutan kitosan dapat larut dalam asam asetat 2%, pada uji bebas protein tidak terbentuknya warna ungu, uji ninhidrin terbentuknya warna ungu menandakan adanya gugus amina pada kitosan yang diperoleh. Dilakukan pengujian menggunakan FTIR (*Fourier Transform Infra Red*) untuk menentukan

gugus fungsi yang terdapat pada kitosan yang dihasilkan.

5. Referensi

1. Wahyuni, Suci. Optimalisasi Temperatur Kalsinasi untuk Mendapatkan Kalsit $CaCO_3$ dalam Cangkang Pensi (*Corbicula moltkiana*) yang Terdapat di Danau Maninjau. *Pillar Of Physic* 2015, Vol. 6 : 81-88.
2. Knorr, D. 1984. *Use Chitinous in Food Tech*. 38:85.
3. Kusumaningsih, Triana. Pembuatan Kitosan dari Kitin Cangkang Bekicot (*Achatina fulica*). *Biofarmasi* 2004, 2 (2): 64-68.
4. Sanjaya, Indah. Adsorpsi Pb(II) oleh Kitosan Hasil Isolasi Kitin Cangkang Kepiting Bakau (*Scyllsa sp*). Jurnal Ilmu Dasar 2007,Vol.8 (1) :30-36.
5. Ifuku, Shinsuke. Chitin and Chitosan Nanofibers: Preparation and Chemical Modifications. *Molecules* 2014, 19:18367-18380.
6. Palpandi, C.; Shanmugam, V.; Shanmugam, S.: Extraction of Chitin and Chitosan From Shel and Operculum of Mangrove Gastropod *Nerita* (*Dostia*) *crepidularia* Lamarck. *International Journal of Medicine and Medical Sciences* 2009, 1(5), 198-205.
7. Trisnawati, Elin. Pembuatan Kitosan dari Limbah Cangkang Kepiting Sebagai Bahan Pengawet Buah Duku dengan Variasi Lama Pengawetan. *Jurnal Teknik Kimia* 2013, 19(2):17-26.
8. Hastuti, Budi. Sintesis Kitosan dari Cangkang Kerang (Anadara inflate) Sebagai Adsorben Ion Cu^{2+}. *Seminar Nasinaonal Kimia dan Pendidikan Kimia VII* 2015.
9. Silviyah, Siti. Penggunaan Metode FTIR (*Fourier Transform Infra Red*) untuk Mengidentifikasi Gugus Fungsi pada Proses Pembaluran Penderita Mioma. 2014. 1-28.
10. Rasyida, Kun. Deteksi Kemurnian Air Zamzam Menggunakan Metode Spektrofotometri *Fourier Transform Infra Red* (FTIR) dan Kemometrik. *e-Jurnal Pustaka Kesehatan* 2014, 2(2): 320-326.
11. Wardaniati, Ratna Adi. Pembuatan Kitosan dari Kulit Udang dan Aplikasinya Untuk Pengawetan Bakso. 2010. 1-5.
12. Purwakusumah, Edy Djauhari. Identifikasi dan Autentifikasi Jahe Merah Menggunakan Kombinasi Spektroskopi FTIR dan Kemometrik. *Jurnal Agritech* 2014, 34(1): 82-87.
13. Kurniasih, Mardiyah. Sintesis dan Karakterisasi Fisika-Kimia Kitosan. *Journal of Inovation* 2011, 5(1): 42-48.
14. Agustina, S.; Kurniasih, Y.: Pembuatan Kitosan dari Cangkang Udang dan Aplikasinya Sebagai Adsorben untuk Menurunkan Kadar Logam Cu. *Seminar Nasional FMIPA UNDIKSHA 2013*, 365-372.
15. Agustina, S; Swantara, I. M. D.; Suartha, I. N.:. Isolasi Kitin, Karakterisasi, dan Sintesis Kitosan dari Kulit Udang. *Jurnal Kimia 9,* 2015, 271-278.

EFEK INDUKSI DARI *Chlorella vulgaris* TERHADAP SUB AKUT TOKSISITAS DELTAMETHRIN (DLM) PADA MENCIT

Rita Wulandari, Armaini*, Abdi Dharma

Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Andalas,Kampus Limau Manis, Padang, 25163 Indonesia
*Email: armaini59@gmail.com

Abstrak: Mikroalga *Chlorella vulgaris* mengandung senyawa antioksidan seperti karotenoid, astaxantin, kantaxantin, flavoxantin, loraxantin, neoxantin dan violaxantin yang dapat digunakan untuk menurunkan efek toksisitas dari mencit yang diinduksi dengan insektisida deltamethrin. Penelitian ini bertujuan untuk melihat pengaruh pemberian mikroalga *Chlorella vulgaris* terhadap fungsi hati (enzim SGOT dan enzim SGPT), malondialdehid dan aktivitas enzim katalase pada mencit yang mengalami toksisitas subakut insektisida deltamethrin. Sebanyak 12 ekor mencit dibagi kedalam 4 kelompok yaitu kelompok normal, kelompok deltamethrin, kelompok *Chlorella vulgaris* dosis 10 mg/20g BB dan kelompok *Chlorella vulgaris* dosis 15 mg/20g BB. Percobaan dilakukan selama 21 hari dengan lama perlakuan *Chlorella vulgaris* selama 14 hari. Dari hasil penelitian pada kelompok normal didapatkan nilai enzim SGOT, SGPT, MDA dan CAT berturut-turut sebesar 22,6 U/L, 12,9 U/L, 1,34 nmol/mL, 9,12 nmol/mL. Pada kelompok deltamethrin nilai yang didapatkan berturut-turut sebesar 43,7 U/L, 27,5 U/L, 2,14 nmol/mL dan 10,86 nmol/mL. Pada kelompok *Chlorella vulgaris* dosis 10 mg/20g BB dan dosis 15 mg/20g BB didapatkan nilai SGOT setelah 7 hari perlakuan sebesar 25,9 U/L dan 14,6 U/L, nilai SGPT sebesar 30,7 U/L dan 46,9 U/L, nilai MDA sebesar 1,11 nmol/mL dan 1,67 nmol/mL serta nilai aktivitas CAT sebesar 12,67 nmol/mL dan 10,54 nmol/mL. Berdasarkan hasil penelitian dapat dinyatakan bahwa mikroalga *Chlorella vulgaris* dapat menurukan enzim SGOT, enzim SGPT dan malondialdehid serta meningkatkan aktivitas enzim katalase pada mencit yang diinduksi deltamethrin. Dari penelitian dapat disimpulkan bahwa mikroalga *Chlorella vulgaris* mampu mengobati toksisitas sub akut dari deltamethrin.

Kata Kunci: *Chlorella vulgaris,* deltamethrin, fungsi hati, malondialdehid (MDA), katalase (CAT)

1. Pendahuluan

Deltamethrin (DLM) adalah insektisida pyretroid sintesis yang sangat banyak digunakan pada bidang pertanian. Deltamethrin memiliki nama kimia (IUPAC) yaitu *(S)-a-cyano-3-phenoxybenzyl (1R,3R)-3-(2,2-dibromovinyl)-2,2 dimethyl cyclopropane carboxylate*. Deltamethrin biasanya digunakan pada sayuran dan buah-buahan untuk melawan hama seperti semut, tungau dan kumbang. Selain itu, digunakan secara umum pada hewan ternak untuk melawan kutu, tungau dan lalat. Deltamethrin banyak digunakan oleh sebagian negara karena metabolismenya yang cepat dan toksisitas yang rendah pada manusia dan hewan nontarget lainnya serta potensi tinggi pada sejumlah besar hama [1,2].

Deltamethrin mempengaruhi sistem saraf melalui penghambatan aktivitas *Acetil cholinesterase* yang pada akhirnya mempengaruhi sistem pernafasan dan sirkulasi, menyebabkan kejang otot dan kelumpuhan. *Acetil cholinesterase* adalah enzim yang berfungsi sebagai katalisator pada hidrolisa asetilkolin menjadi kolin dan asetat. Jika aktifitas *acetil cholinesterase* turun atau berkurang karena adanya pestisida dalam darah akan membentuk senyawa *phosphorilated cholinesterase*, sehingga enzim tersebut tidak dapat berfungsi lagi [3].

Stres oksidatif dapat mengakibatkan kerusakan oksidatif yang ditandai sebagai kerusakan biomolekuler yang disebabkan oleh serangan radikal bebas atau spesies oksigen reaktif lainnya (ROS) umumnya merusak dan tidak reversible [4]. Peroksidasi lipid meningkat secara signifikan dengan penurunan aktivitas CAT secara bersamaan. Hal ini dapat dijelaskan karena antioksidan tidak mampu menghilangkan kelebihan peroksida dan anion superoksida yang mengakibatkan penurunan aktivitas antioksidan seluler yang menyebabkan aktivitas enzimatik menurun [5].

Peroksidasi lipid (LPO) adalah salah satu mekanisme molekuler toksisitas

pestisida yang dapat mengganggu fungsi biokimia dan fisiologis sel darah merah. Sel darah merah sangat rentan terhadap kerusakan oksidatif karena konsentrasi sel yang tinggi dari asam lemak tak jenuh ganda, hemoglobin dan oksigen, yang dapat menghasilkan perubahan oksidatif pada sel darah merah. Untuk melindungi dirinya sendiri, sel darah merah memiliki sistem pertahaan antioksidan yang efektif misalnya superoxide dismutase (SOD), katalase (CAT) dan glutathione peroxidase (GPx) yang menetralisir oksidan reaktif menjadi tidak atau kurang reaktif [6,7].

Chlorella vulgaris adalah mikroalga yang termasuk kedalam golongan alga hijau (chlorophyta). Bentuk sel *Chlorella vulgaris* bulat lonjong dengan garis tengah sel antara 2-8 µm. *Chlorella vulgaris* berkembangbiak dengan cara membelah diri dan pembentukan spora. *Chlorella vulgaris* bersifat fotoautotrof. Tubuhnya terdiri atas satu sel (uniseluler). *Chorella vulgaris* mampu hidup dengan baik pada lingkungan yang banyak mengandung unsur hara tinggi dan memanfaatkannya untuk kelangsungan proses fotosintesis, berkembang biak dan melakukan aktivitas hidup lainnya [8].

Chlorella vulgaris merupakan mikroalga yang termasuk kedalam kelas alga hijau. Mikroalga ini belum memiliki akar, batang dan daun sejati, tetapi telah memiliki pigmen klorofil sehingga bersifat fotoautotrof. Tubuhnya terdiri atas satu sel (uni selular) dan ada juga yang bersel banyak (multiseluler) dengan sifat yang cenderung membentuk koloni [9]. *Chlorella vulgaris* mempunyai nutrisi seperti protein, lemak, β-karoten dan vitamin serta antioksidan seperti klorofil, lutein, α-karoten, β-karoten, asam askorbat dan α-tokoferol yang memiliki kemampuan untuk mengikat radikal bebas [10].

Dalam penelitian ini, akan dilakukan pengukuran tentang kerusakan hati akibat keracunan deltamethrin, lipid peroksidasi dan antioksidan pada mencit yang diinduksi deltamethrin, yang akan diobati dengan menggunakan mikroalga *Chlorella vulgaris*. Mikroalga ini memiliki kandungan klorofil (pigmen) dan antioksidan yang dapat menangkal radikal bebas.

2. Metodologi Penelitian

2.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu peralatan gelas, sentrifus, *autoclave*, neraca analitik, spektofotometer, oven, kandang untuk pemeliharaan mencit, spuit ukuran 3 mL, tempat air minum, alat bedah (skapel, pinset, gunting, jarum), kertas label, mikroskop cahaya olympus BX 51 dan tube.

2.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu mikroalga *Chlorella vulgaris*, medium BBM, etanol, akuades, deltamethrin 25 g/L, CMC 1%.

2.3 Prosedur Penelitian

2.3.1 Preparasi *Chlorella vulgaris*

Mikroalga *Chlorella vulgaris* ditumbuhkan dalam medium BBM yang terdiri dari ($NaNO_3$ 10ml/L, $MgSO_4.7H_2O$ 10 ml/L, NaCl 10ml/L, K_2HPO_4 10ml/L, KH_2PO_4 10ml/L, CaCl.2H2O 10ml/L, H_3BO_3 1ml/L, trace element 1ml/L, EDTA 1ml/L, Fe-solution 1ml/L). Medium BBM diautoclave selama 1 jam dan didinginkan hingga suhu kamar.

2.3.2 Preparasi Larutan Deltamethrin

Larutan deltamethrin dibuat dengan dosis 2 mg/kg. Pembuatan larutan deltamethrin dibuat dengan melarutkan 1 mL dalam 100 mL akuades.

2.3.3 Pembuatan Larutan *Chlorella vulgaris*

Chlorella vulgaris dosis 10 mg/20 g BB mencit. Biomassa *Chlorella vulgaris* ditimbang sebanyak 250 mg kemudian dihaluskan di dalam lumpang selanjutnya ditambahkan dengan 10 mL aquades. Kemudian dipindahkan ke dalam botol film. Selanjutnya campuran didiamkan dalam suhu kamar dan disimpan di dalam lemari pendingin. *Chlorella vulgaris* dosis 15 mg/20 g BB mencit. Biomassa *Chlorella vulgaris* ditimbang sebanyak 500 mg kemudian dihaluskan di dalam lumpang selanjutnya ditambahkan dengan 20 mL aquades. Kemudian pindahkan ke dalam botol film. Selanjutnya campuran didiamkan dalam suhu kamar dan disimpan di dalam lemari pendingin.

2.3.4 Pemberian Mikroalga *Chlorella vulgaris* pada Hewan Uji

Hewan uji diaklimatisasi selama 7 hari. Lalu dibagi menjadi 2 kelompok yaitu kelompok normal dan kelompok deltamethrin, hewan uji ditimbang berat badannya, kemudian kelompok normal diteruskan sebagai kelompok normal atau kelompok kontrol negatif dan kelompok yang diberi deltamethrin kemudian dibagi kembali menjadi 3 kelompok (kelompok A, kelompok B dan kontrol positif) sebagai

berikut : Kelompok normal terdiri dari 3 ekor mencit diberi makan pelet dan diberi air minum. Kelompok deltamethrin terdiri dari 3 ekor mencit yang diberi deltametrin, dan makanan pelet serta air minum. Kelompok A (10 mg/20 g BB) terdiri dari 3 ekor mencit diberi deltamethrin dan diberi makan dengan pelet, air, dan *Chlorella vulgaris* (dosis 10 mg/20 g BB mencit). Kelompok B (15 mg/20 g BB) terdiri dari 3 ekor mencit diberi deltamethrin dan diberi makan dengan pelet, air, dan *Chlorella vulgaris* (dosis 15 mg/20 g BB mencit). Setelah pemberian perlakuan selama 21 hari berturut-turut, mencit kemudian ditimbang kembali berat badannya dan di ambil serum darah mencit untuk uji enzim SGOT, enzim SGPT, malondialdehid (MDA) dan enzim katalase (CAT).

2.4 Uji Kerusakan Fungsi Hati

2.4.1 SGOT (*Serum Glutamic Oxaloacetic Transaminase*)

Serum darah mencit diambil sebanyak 100 µL lalu ditambahkan dengan reagen 1 sebanyak 1000 µL dan diinkubasi selama 5 menit. Selanjutnya campuran tersebut ditambahkan reagen 2 sebanyak 250 µL lalu dihomogenkan. Selanjutnya dilakukan pembacaan setelah 1 menit, 2 menit dan 3 menit pada panjang gelombang 365 nm.

2.4.2 SGPT (*Serum Glutamic Pyruvate Transaminase*)

Serum darah mencit diambil sebanyak 100 µL lalu ditambahkan dengan reagen 1 sebanyak 1000 µL dan diinkubasi selama 5 menit. Selanjutnya campuran tersebut ditambahkan reagen 2 sebanyak 250 µL lalu dihomogenkan. Selanjutnya dilakukan pembacaan setelah 1 menit, 2 menit dan 3 menit pada panjang gelombang 365 nm.

2.5 Uji Lipid Peroksidasi

2.5.1 Malondialdehid (MDA)

Serum darah direaksikan dengan TCA 5% lalu dicampur dengan menggunakan *vortex mixer* dan disentrifus pada kecepatan 10.000 RPM selama 15 menit. Filtrat dipipet (masing-masing tabung) sebanyak 1mL, ditambahkan reagen asam tiobarbiturat sebanyak 1 mL dan diinkubasi dalam *water bath* selama 30 menit pada suhu 100^{o}C lalu didinginkan. Ukur absorban dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 530 nm dan dipisahkan filtratnya.

2.6 Uji Aktivitas Antioksidan

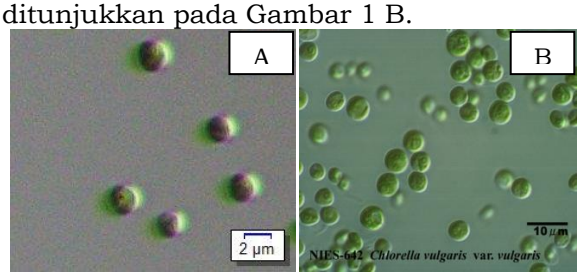
2.6.1 Enzim Katalase (CAT)

Sebelum mengukur aktivitas katalase, diukur terlebih dahulu total protein dengan menggunakan alat Mikrolab 300 memakai standar kit, blanko akuades. Serum ditambahkan dengan pewarna total protein lalu diukur adsorban. Enam buah tabung diisi dengan H_2O_2 dalam jumlah yang berbeda yaitu dari konsentrasi 0 µmol sampai 160 µmol. Pada masing-masing tabung tambahkan 2 ml dichromat dalam asam asetat glasial menghasilkan warna biru keunguan. Dipanaskan dalam *water bath* mendidih selama 10 menit warna larutan berubah menjadi hijau, dinginkan pada suhu kamar. Tambahkan pada setiap tabung H_2O_2 hingga volume 3 mL lalu dipindahkan dalam kuvet dan diukur absorban dengan panjang gelombang 570 nm.

3. Hasil dan Pembahasan

3.1 Morfologi *Chlorella vulgaris*

Dari identifikasi morfologi yang telah dilakukan pada mikroalga *Chlorella vulgaris* dilihat bahwa *Chlorella vulgaris* merupakan kultur tunggal (Gambar 1 A). Berdasarkan Gambar 1 A bisa dilihat bahwa morfologi *Chlorella vulgaris* sama dengan morfologi dari literatur seperti yang ditunjukkan pada Gambar 1 B.



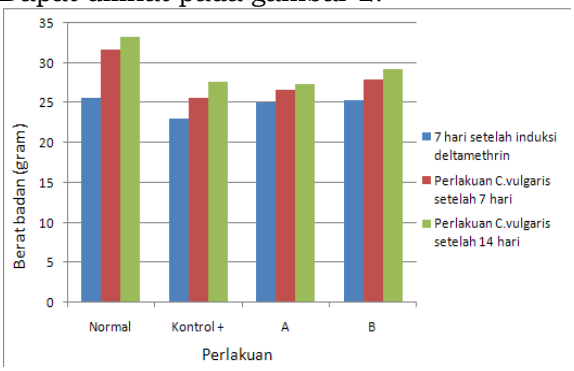
Gambar 1. (A) Morfologi *Chlorella vulgaris* pembesaran 1000x (B) morfologi *Chlorella vulgaris* dari Hadiyanto

Mikroalga *Chlorella vulgaris* ditumbuhkan dalam medium BBM dan dipanen pada fasa stasioner (tetap) yaitu pada hari ke 21 yang ditandai dengan berubahnya warna larutan menjadi hijau pekat, lalu mikroalga ini diendapkan untuk didapatkan biomassa kering yang akan diujikan ke hewan uji.

3.2 Penimbangan Berat Badan Hewan Uji

Pada penelitian ini sebelum mencit diberi perlakuan, mencit diaklimatisasi selama 7 hari yang bertujuan agar mencit dapat beradaptasi dengan lingkungan yang berada disekitarnya, selama mencit diaklimatisasi akan diberi makan pakan BP-2. Setelah masa aklimatisasi mencit akan ditimbang berat badannya sebanyak 3 kali yaitu setelah pemberiam deltamethrin, setelah 7 hari perlakuan, dan

setelah 14 hari perlakuan. Penimbangan berat badan ini bertujuan untuk melihat efek yang ditimbulkan dari pemberian deltamethrin terhadap berat badan masing-masing mencit dan juga melihat efek dari mikroalga *Chlorella vulgaris* terhadap berat badan mencit keracunan deltamethrin. Dapat dilihat pada gambar 2.



Gambar 2. Rata-rata berat badan hewan uji masing-masing perlakuan

Pada gambar 2 merupakan grafik rata-rata berat badan mencit untuk setiap kelompoknya selama 21 hari percobaan (14 hari perlakuan). Dari grafik dapat dilihat bahwa mencit pada kelompok deltamethrin mengalami penurunan berat badan dibandingkan dengan kelompok normal. Hal ini menjelaskan bahwa mencit yang mengalami keracunan insektisida deltamethrin akan mengalami penurunan berat badan. Sedangkan setelah diberi perlakuan dengan mikroalga *Chlorella vulgaris* selama 14 hari terjadi kenaikan berat badan mencit dibandingan dengan kelompok deltamethrin. Hal ini dikarenakan mikroalga *Chlorella vulgaris* mampu menurunkan efek toksisitas dari insektisida deltamethrin [11].

3.3 Hasil Uji Kerusakan Fungsi Hati

Enzim SGOT (*Serum Glutamic Oxaloacetic Transaminase*) dan enzim SGPT (*Serum Glutamic Pyruvate Transaminase*) merupakan enzim yang ada di hati. Dalam keadaan normal enzim ini tidak dikeluarkan oleh hati, sehingga kadarnya normal di dalam serum mencit. Hal yang berbeda akan terjadi jika mencit mengalami kerusakan pada organ hati salah satunya akibat keracunan pestisida, maka enzim ini akan meningkat di dalam serum mencit. Peningkatan enzim ini di dalam serum merupakan penanda terjadinya kebocoran enzim dari hati akibat kerusakan jaringan [12].

Tabel 1. Hasil uji enzim SGOT

No	Perlakuan	SGOT (U/L) 7 Hari	14 Hari	21 Hari
1	Normal	22,6		
2	Kelompok deltamethrin	24,3		43,7
3	*Chlorella vulgaris* 10 mg/20g BB		25,9	45,6
4	*Chlorella vulgaris* 15 mg/20g BB		14,6	17,8

Tabel 2. Hasil uji enzim SGPT

No	Perlakuan	SGPT (U/L) 7 Hari	14 Hari	21 Hari
1	Normal	12,9		
2	Kelompok deltamethrin	32,4		27,5
3	*Chlorella vulgaris* 10 mg/20g BB		30,7	69,6
4	*Chlorella vulgaris* 15 mg/20g BB		46,9	34,0

Dari tabel 1 dan 2 dapat dilihat bahwa terjadi peningkatan nilai enzim SGOT dan SGPT pada kelompok yang diinduksi insektisida deltamethrin dibandingkan dengan kelompok normal dengan nilai masing-masingnya yaitu 24,3 U/L dan 32,4 U/L. Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya bahwa terjadinya peningkatan produksi enzim-enzim transaminase yaitu SGOT dan SGPT terjadi sebagai respon terhadap keadaan cedera sel-sel hati. Dimana cedera sel hati ini diakibatkan oleh insektisida deltamethrin [13].

Enzim SGOT pada kelompok yang diberi perlakuan dengan *Chlorella vulgaris* dosis 10 mg/20g BB terjadi peningkatan dibandingkan dengan kelompok yang diinduksi dengan deltamethrin, sedangkan pada dosis 15 mg/20g BB terjadi penurunan enzim SGOT nya dibandingkan dengan kelompok deltamethrin. Hal ini dapat disimpulkan bahwa *Chlorella vulgaris* dosis 15 mg/20g BB lebih efektif untuk menurunkan enzim SGOT pada mencit yang diinduksi dengan insektisida deltamethrin. Untuk enzim SGPT pada kolompok yang diberi perlakuan dengan *Chlorella vulgaris* dosis 10 mg/20g BB dan dosis 15 mg/20g BB terjadi peningkatan dibandingkan dengan kelompok deltamethrin. Hal ini terjadi karena enzim SGPT ini membutuhkan waktu yang lama untuk kembali menjadi normal di bandingkan dengan SGOT, sehingga enzim SGPT ini akan semakin meningkat di bandingkan dengan enzim SGOT. Meskipun kedua enzin terdapat di hati dengan konsentrasi yang tinggi, tetapi enzim SGPT ini lebih sering di ukur untuk

penyakit kronik sedangkan enzim SGOT ini lebih sering diukur untuk penyakit yang akut seperti nekrosis hati akibat keracunan [14].

3.4 Hasil Uji Malondialdehid (MDA)

MDA adalah produk sampingan dari peroksidasi lipid dengan berat molekul rendah, yang berasal dari dekomposisi hidroperoksida lipid yang sangat reaktif. MDA digunakan sebagai penanda stres oksidatif. Kerusakan oksidatif muncul ketika ketidakseimbangan terjadi dalam sistem, yaitu kelebihan produksi radikal bebas atau penurunan mekanisme pertahanan antioksidan. Dalam keadaan ini radikal bebas bereaksi dengan lipid, protein dan DNA sering menyebabkan kerusakan yang tidak dapat diperbaiki yang dapat menyebabkan kematian sel. Salah satu yang ditimbulkan dari kerusakan oksidatif adalah peroksidasi lipid [15].

Tabel 3. Hasil uji malondialdehid (MDA)

No	Perlakuan	MDA (nmol/mL) 7 Hari	14 Hari	21 Hari
1	Normal	1,34		
2	Kelompok deltamethrin	3,50		2,14
3	*Chlorella vulgaris* 10 mg/20g BB		1,11	1,67
4	*Chlorella vulgaris* 15 mg/20g BB		1,67	1,59

Berdasarkan pada tabel 3 dapat dilihat bahwa terjadinya peningkatan malondialdehid (MDA) pada kelompok deltamethrin di bandingkan dengan kelompok normal. Peningkatan MDA ini disebabkan oleh meningkatnya jumlah radikal di dalam tubuh mencit yang telah diinduksi insektisida deltamethrin. Dengan meningkatnya MDA maka lipid peroksidasi juga akan meningkat serta stress oksidatif juga akan meningkat [16].

Setelah pemberian mikroalga *Chlorella vulgaris* selama 14 hari dapat dilihat bahwa malondialdehid pada kelompok *Chlorella vulgaris* dosis 10 mg/20g BB dan 15 mg/20g BB mengalami penurunan jika di bandingan dengan kelompok deltamethrin. Hal ini membuktikan bahwa mikroalga *Chlorella vulgaris* memiliki senyawa antioksidan yang mampu menangkal radikal bebas akibat keracunan insektisida deltamethrin. Dengan menurunnya jumlah radikal bebas ditubuh mencit maka MDA juga akan menurun sehingga lipid peroksidasi juga akan ikut menurun [17].

3.5 Hasil Uji Aktivitas Enzim Katalase (CAT)

Katalase (CAT) merupakan salah satu enzim pertahanan antioksidan, tubuh memiliki pembentukan antioksidan sendiri untuk menyeimbangi radikal bebas yang terbentuk, jika enzim pertahanan tidak mampu untuk melawan radikal bebas maka akan menimbulkan stress oksidatif dimana akan menyebabkan naiknya peroksidasi lipid atau malondialdehid (MDA) [18].

Tabel 4. Hasil uji aktivitas enzim katalase (CAT)

No	Perlakuan	CAT (nmol/mL) 7 Hari	14 Hari	21 Hari
1	Normal	9,12		
2	Kelompok deltamethrin	8,29		10,86
3	*Chlorella vulgaris* 10 mg/20g BB		12,67	10,54
4	*Chlorella vulgaris* 15 mg/20g BB		11,02	10,24

Pada tabel 4 didapatkan bahwa aktivitas enzim katalase pada kelompok deltamethrin pada hari ke-7 terjadi penurunan dibandingkan dengan kelompok normal, sedangkan aktivitas enzim katalase terjadi peningkatan pada pemberian mikroalga *Chlorella vulgaris* dosis 10 mg/20g BB, sedangkan pada pemberian mikroalga *Chlorella vulgaris* dosis 15 mg/20g BB terjadi penurunan aktivitasnya. Hal ini menjelaskan bahwa dosis 10 mg/20g BB lebih efektif meningkatkan aktivitas enzim katalase dibandingkan dengan dosis 15 mg/20g BB.

Mikroalga *Chlorella vulgaris* memiliki kandungan senyawa flavonoid yang aktif sebagai antioksidan yang dapat menyeimbangi terbentuknya radikal bebas didalam tubuh, sehingga produksi radikal bebas didalam tubuh akan berkurang. Peningkatan radikal bebas didalam tubuh ditandai dengan meningkatnya peroksidasi lipid (MDA) yang merupakan marker dari stress oksidatif. Jika terjadi peningkatan peroksidasi lipid didalam darah maka akan meningkat pula stress oksidatif didalam tubuh yang menyebabkan produksi radikal bebas akan semakin banyak. Pada penelitian ini mikroalga *Chlorella vulgaris* mampu untuk menurunkan

malondialdehid (MDA) pada mencit yg diinduksi insektisida deltamethrin [19].

4. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan tentang pengaruh pemberian mikroalga *Chlorella vulgaris* terhadap toksisitas pada mencit yang diinduksi insektisida deltamethrin dapat disimpulkan bahwa induksi insektisida deltamethrin dapat meningkatkan enzim SGOT, enzim SGPT dan malondialdehid (MDA) serta menurunkan enzim katalase (CAT). Perlakuan mikroalga *Chlorella vulgaris* dosis 15 mg/20g BB mampu menurunkan enzim SGOT serta meningkatkan enzim SGPT dan enzim katalase selama 14 hari perlakuan. Mikroalga *Chlorella vulgaris* dosis 10 mg/20g BB setelah 7 hari perlakuan mampu menurunkan malondialdehid (MDA) pada mencit yang diinduksi insektisida deltamethrin. Dari penelitian dapat disimpulkan bahwa mikroalga *Chlorella vulgaris* mampu mengobati toksisitas sub akut dari deltamethrin.

5. Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada laboratorium Biokimia Universitas Andalas yang telah menyediakan fasilitas untuk penelitian, laboratorium imunologi farmasi Universitas Andalas yang telah memberikan bantuan fasilitas perlakuan terhadap hewan uji, laboratorium Biokimia fakultas kedokteran Universitas Andalas yang telah memberikan bantuan untuk menguji aktivitas enzim SGOT, SGPT dan katalase serta malondialdehid.

Referensi

1. Abdel-Daim, Mohamed. 2013. Protective role of *Spirulina platensis* against acute deltamethrin induced toxicity in rats. *Spirulina Against Deltamethrin-Induced Toxicity*.
2. Abdelkhalek, Nevien K. M., Emad W. Ghazy., Mohamed. Abdel-Daim. 2014. Pharmacodynamic interaction of *Spirulina platensis* and deltamethrin in freshwater fish Nile tilapia, Oreochromis niloticus: impact on lipid peroxidation and oxidative stress. *Environ Sci Pollut Res*.
3. Adi, Anugrah. 2012. Efek pemberian ekstrak methanol daun kenikir (*Cosmos Caudatus Kunth*) terhadap kadar asam urat serum tikus putih (*Rattus Norvegicus L*) galur wistar hiperurikemia. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran: Universitas Muhammadiyah, Surakarta.
4. D. Baldissera, Matheus., Carine. F. Souza., Thirssa. H. Grando., Aleksandro. S. da Silva., Silvia. G. Monteiro. 2016. Involvement of oxidative stress, cholinergic and adenosinergic systems on renal damage caused by Trypanosoma evansi infection: Relationship with lipid peroxidation. *Microbial Pathogenesis*. 99: 191-195.
5. Ince, Sinan., Damla. Arslan-Acaroz., Hasan. Huseyin Demirel., Nuray. Varol., Hatice. Arzu Ozyurek., Fahriye. Zemheri., Ismail. Kucukkurt. 2017. Taurine alleviates malathion induced lipid peroxidation, oxidative stress, and proinflammatory cytokine gene expressions in rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 96: 263–268.
6. Halim Mossa , Abdel-Tawab., Tarek. Mohamed Heikal., Samia. Mostafa Mohamed Mohafrash. 2014. Lipid peroxidation and oxidative stress in rat erythrocytes induced by aspirin and diazinon: the protective role of selenium. *Asian Pac J Trop Biomed*. 4(Suppl 2): S603-S609.
7. Nimse, S. B., D. Pal. 2015. Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms. *Royal Society of Chemistry*. 1: 27986-28006.
8. Yulita, Eli. 2014. Pemanfaatan limbah cair industri karet remah sebagai media pertumbuhan *Chlorella vulgaris* untuk pakan alami ikan. *Jurnal Dinamika Penelitian Industri*. 1(25): 1-11.
9. Siti, Arifah. 2014. Studi kemampuan *Nannochloropsis* sp. dan *Clorella* sp. sebagai agen bioremediasi logam berat merkuri (Hg) dan pengaruhnya terhadap pertumbuhan. *Skripsi*. Fakultas Perikanan dan Kelautan: Universitas Airlangga, Surabaya.
10. Harnadiemas, R. F. 2008. Evaluasi pertumbuhan dan kandungan esensial *Chlorella vulgaris* pada kultivasi fotobioreaktor outdoor skala pilot dengan pencahayaan terang gelap alami. *Skripsi*. Fakultas Teknik: Universitas Indonesia, Jakarta.
11. Arora, Deepika., Mohammed Haris. Siddiqui., Uma Shankar. Singh., Pradhyumna Kumar. Singh. 2016. Evaluation and physiological correlation of plasma proteomic fingerprints for deltamethrin-induced hepatotoxicity in wistar rats. *Life* Sciences.

12. Mujahid, Mohd., Talib. Hussain., Hefazat. Hussain Siddiqui., Arshad. Hussain. 2017. Evaluation of hepatoprotective potential of Erythrina indica leaves against antitubercular drugs induced hepatotoxicity in experimental rats. *Journal of Ayurveda and Integrative Medicine*. 8: 7-12.
13. Marifa Anggraini, Dini., Sri. Ujiani. 2017. Hubungan kadar feritin dengan aktivitas enzim SGOT dan SGPT pasien Thalasemia Di RSUD Abdul Moeloek Provinsi Lampung Tahun 2017. *Jurnal Analis Kesehatan*. 2(6): 632-639.
14. Rindwitia Indah Peanasari, Ayu., Sri. Latiyani Djamil., Afiana. Rohmani. 2015. Pengaruh formalin peroral terhadap kadar SGOT dan SGPT tikus wistar. *Jurnal Kedokteran Muhammadiyah*. 1(2): 34-38.
15. Wang, Qing-Shan., Cui-Li. Zhang., Xiu-Lan. Zhao., Su-Fang. Yu., Ke-Qin. Xie. 2006. Malondialdehyde and catalase as the serum biomarkers of allyl chloride-induced toxic neuropathy. *Toxicology*. 227: 36–44.
16. Singh, Vipul K., Reddy. Jyoti., Krishna. M.M., C. Kesavachandran., S.K. Rastogi., M.K.J. Siddiqui. 2007. Biomonitoring of organochlorines, glutathione, lipid peroxidation and cholinesterase activity among pesticide sprayers in mango orchards. *Clinica Chimica Acta*. 377: 268–272.
17. Banke , Idris Sherifat., Ambali Suleiman. Folorunsho., Bisalla. Mohammed., Suleiman Mohammed. Musa., Onukak. Charles., Ayo Joseph. Olusegun. 2014. Effects of melatonin on changes in cognitive performances and brain malondialdehyde concentration induced by sub-chronic coadministration of chlorpyrifos and cypermethrin in male wister rats. *Asian Pac J Trop Biomed*. 4(4): 318-323.
18. Ojha, Anupama., Santosh. K. Yaduvanshi., Nalini. Srivastava. 2011. Effect of combined exposure of commonly used organophosphate pesticides on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in rat tissues. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 99: 148–156.
19. Kumar, Vijay., Jayantee. Kalita., Himangsu K. Bora., Usha K. Misra. 2016. Relationship of antioxidant and oxidative stress markers in different organs following copper toxicity in a rat model. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 293: 37–43.

ANALISIS KUALITAS AIR LAHAN BEKAS TAMBANG BATU BARA TERHADAP SIFAT KIMIA (PH DAN KONSENTRASI LOGAM CD, PB, FE, CU) DAN SIFAT FISIKA (TEMPERATUR, KONDUKTIVITAS, TDS) DI DANAU BIRU KOTA SAWAHLUNTO

Hermansyah Aziz, Yulizar Yusuf, Mu'ammar Irfan Mawardi*

Laboratorium Kimia Fisika, Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Andalas
Kampus Limau Manis, Padang
*Email: muammarirfanmawardi12@gmail.com

Abstrak: Penelitian tentang analisis kualitas air danau biru bekas tambang batu bara terhadap sifat kimia dan fisika telah dilakukan. Pengambilan sampel dilakukan pada bulan Februari (saat kemarau) dan pada bulan Maret (saat hujan) pada 12 titik lokasi di sekeliling danau biru. Penentuan pH dilakukan langsung di lapangan mengunakan pH meter tipe pena (pH-900(I)A). Analisis kandungan logam dari setiap sampel dilakukan dengan metoda Spektrofotometer Serapan Atom (SSA). Sedangkan konduktivitas dan *Total Dissolved Solids* (TDS) ditentukan menggunakan alat EC/TDS meter. Nilai pH yang didapatkan pada saat kemarau dan saat hujan dari air danau biru nilainya relatif lebih kecil dan hampir sama pada semua lokasi yaitu berkisar antara 4,1 sampai 4,3. Pada saat kemarau kandungan logam yang tinggi adalah logam Fe (2,1509 mg/L) dan Cd (0,0256 mg/L), sedangkan logam Cu relatif lebih rendah yaitu 0,0194 mg/L dan logam Pb tidak terdeteksi, pada saat hujan kandungan logam yang tinggi adalah logam Fe (0,2239 mg/L), Cd (0,0190mg/L), dan Pb (0,0351 mg/L), sedangkan logam Cu relatif lebih rendah yaitu 0,0072 mg/L. Nilai konduktivitas berkisar antara 7,2-15,4 µS/cm dan nilai TDS diperoleh antara 362-376 mg/L, ini masih berada pada kisaran kualitas air sangat baik (nilai TDS <400).
Kata kunci: pH, SSA, konduktivitas, TDS

1. Pendahuluan

Kegiatan pembangunan seringkali menyebabkan kerusakan lingkungan, sehingga menyebabkan penurunan mutu lingkungan berupa kerusakan ekosistem yang selanjutnya mengancam dan membahayakan kelangsungan hidup manusia itu sendiri. Kegiatan seperti pembukaan hutan, penambangan, pembukaan lahan pertanian, dan pemukiman, bertanggung jawab terhadap kerusakan ekositem yang terjadi. Begitu juga dengan penambangan batu bara yang ada di Sawahlunto (kandis), yang menimbulkan genangan air berwarna biru (danau biru). Danau biru berasal dari bekas galian tambang batu bara di daerah Sawahlunto. Bekas tambang digenangi oleh air yang berasal dari sumber air bawah tanah. Danau kelihatan berwarna biru dari jarak tertentu akibat scattering cahaya matahari yang datang ke permukaan danau yang diduga mengandung logam-logam berat tertentu [1].

Pada lahan bekas tambang batu bara ini masalah utama yang timbul adalah perubahan lingkungan. Hal ini disebabkan karena komposisi batu bara tersebut mengandung karbon, hidrogen, oksigen, nitrogen, dan sulfur. Perubahan kimiawi terutama berdampak terhadap air tanah dan air permukaan dari hasil penambangan tersebut. Dimana air yang muncul dipermukaan bekas tambang batu bara tersebut berwarna biru, yang diduga mengandung logam berat. Unsur yang termasuk logam berat seperti As, Cr, Cd, Pb, Fe, Cu, Co, Hg, Se, Sb, Mn, Zn, dan Ni berasal dari limbah industri batu bara dan hasil aktifitas manusia [2].

Logam berat termasuk bahan pencemar yang berbahaya, pencemaran oleh logam ini akan merusak stabilitas, keanekaragaman dan perkembangan ekosistem. Logam berat umumnya bersifat toksik (racun) dan kebanyakan di air ditemui dalam bentuk ion. Diantara ion logam berat yang mencemari perairan adalah ion logam cadmium (Cd), krom (Cr), timbal (Pb), tembaga (Cu), merkuri (Hg), besi (Fe) [3]. Hasil penambangan batu bara tersebut menimbulkan dampak, dimana tergenangnya air yang cukup banyak diharapkan dapat digunakan untuk aktifitas yang bermanfaat seperti pariwisata, sumber air minum, dan keperluan perkebunan. Sampai saat sekarang informasi, kondisi dan kualitas air serta pemanfaatan air danau tersebut belum ada.

Berdasarkan hal di atas perlu dilakukan penelitian tentang kualitas air danau biru bekas tambang batu bara di Sawahlunto agar dapat diketahui karakteristik air danau biru tersebut, terkait dengan kandungan logam-logam berat dan nilai pH. Karakteristik yang terbatas pada pH dan kandungan logam-logam berat (Cd, Pb, Fe, Cu) dikaitkan dengan aspek lingkungan. karakteristik air danau biru dikaitkan dengan standar baku mutu air, sehingga dapat diperoleh potensi dan kualitas air danau tersebut yang dapat dimanfaatkan sebagai daerah wisata. Untuk itu perlu dilakukan analisis kandungan logam-logam berat seperti Cd, Pb, Fe, Cu, pH, konduktivitas dan Total Dissolve Solids (TDS) air danau pada saat kemarau (Februari) dan hujan (Maret).
Sebagai informasi bahwa sampai saat ini masyarakat yang mengunjungi lokasi danau Biru hanya sebatas melihat keindahan alam dan belum berani memanfaatkan air danau tersebut.

2. Metodologi Penelitian

2.1 Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah Spektrofotometri Serapan Atom (SSA) merk Varian AA240, pH meter tipe pena (pH-900(I)A), EC/TDS meter (HANNA) dan peralatan gelas lainnya yang biasa digunakan di laboratorium.

2.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah $Cd(NO_3)_2.4H_2O$, $Fe(NO_3)_3.9H_2O$, $Cu(NO_3)_2.3H_2O$, $Pb(NO_3)_2$, HNO_3 pa.

2.3 Prosedur Kerja

2.3.1 Persiapan Sampel

Sampel diambil di 12 titik lokasi danau biru. Pengambilan sampel dilakukan sebanyak dua kali yaitu pada saat kemarau (Februari) dan saat hujan (Maret). Sampel diambil pada bagian dasar, tengah, dan permukaan, selanjutnya dihomogenkan. Setelah itu diukur pH masing-masing titik lokasi dilapangan. Selanjutnya diasamkan dengan HNO_3 pa sampai pHnya mendekati ≤ 2, kemudian sampel dibawa ke laboratorium untuk dilakukan pengukuran parameter lainnya.

2.3.2 Pembuatan Larutan Standar

a. Pembuatan Larutan Induk Cd(II) 1000 mg/L
   Ditimbang 0,6861 gram $Cd(NO_3)_2.4H_2O$ dilarutkan dalam labu 250 mL dan diencerkan hingga tanda batas dengan menngunakan akuades.
b. Pembuatan Larutan Induk Pb(II) 1000 mg/L
   Ditimbang 0,3996 gram $Pb(NO_3)_2$ dan dilarutkan dalam labu 250 mL diencerkan hingga tanda batas dengan menggunakan akuades.
c. Pembuatan Larutan Induk Fe(III) 1000 mg/L
   Ditimbang 1,8085 gram $Fe(NO_3)_3.9H_2O$ dan dilarutkan dalam labu 250 mL diencerkan hingga tanda batas dengan menggunakan akuades.
d. Pembuatan Larutan Induk Cu(II) 1000 mg/L
   Ditimbang 0,9505 gram $Cu(NO_3)_2.3H_2O$ dan dilarutkan dalam labu 250 mL diencerkan hingga tanda batas dengan menggunakan akuades.

2.3.3 Pengukuran konsentrasi logam Cd, Pb, Fe, Cu

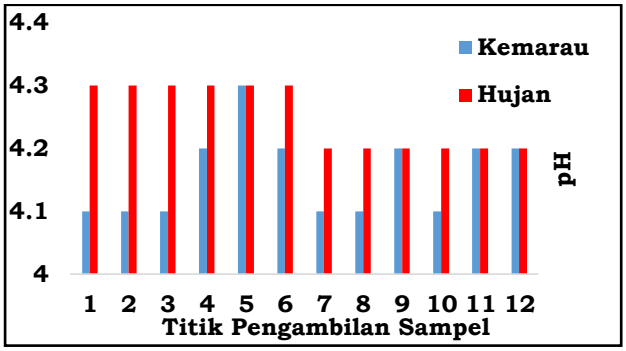
a) Pengukuran konsentrasi logam Cd
   Pembuatan larutan standar Cd^{2+} dengan variasi konsentrasi 0,1;0,2;0,3;0,4;0,5 mg/L yaitu dengan cara memipet larutan standar Cd^{2+} 50 ppm masing-masing 0,1 mL, 0,2 mL, 0,3 mL, 0,4 mL, 0,5 mL dan diencerkan dalam labu ukur 50 mL. Selanjutnya diukur absorban masing-masing larutan standar dan juga dilakukan pengukuran absorban sampel sebanyak 12 titik lokasi.
b) Pengukuran konsentrasi logam Pb
   Pembuatan larutan standar Pb^{2+} dengan variasi konsentrasi 0,2;0,4;0,6;0,8;1,0 mg/L yaitu dengan cara memipet larutan standar Pb^{2+} 50 ppm masing-masing 0,2 mL, 0,4 mL, 0,6 mL, 0,8 mL, 1,0 mL dan diencerkan dalam labu ukur 50 mL. Selanjutnya diukur absorban masing-masing larutan standar dan juga dilakukan pengukuran absorban sampel sebanyak 12 titik lokasi.
c) Pengukuran konsentrasi logam Fe
   Pembuatan larutan standar Fe^{3+} dengan variasi konsentrasi 0,5;1,0;1,5;2,0;2,5 mg/L yaitu dengan cara memipet larutan standar Fe^{3+} 50 ppm masing-masing 0,5 mL, 1,0 mL, 1,5 mL, 2,0 mL, 2,5 mL dan diencerkan dalam labu ukur 50 mL. Selanjutnya diukur absorban masing-masing larutan standar dan juga dilakukan pengukuran absorban sampel sebanyak 12 titik lokasi.
d) Pengukuran konsentrasi logam Cu
   Pembuatan larutan standar Cu^{2+} dengan variasi konsentrasi 0,3;0,6;0,9;1,2;1,5 mg/L yaitu dengan cara memipet larutan standar Cu^{2+} 50 ppm masing-masing 0,3 mL, 0,6 mL, 0,9 mL, 1,2 mL, 1,5 mL dan diencerkan dalam labu ukur 50 mL. Selanjutnya diukur absorban masing-masing larutan standar dan juga

dilakukan pengukuran absorban sampel sebanyak 12 titik lokasi.

3. Hasil dan Diskusi

3.1 Penentuan pH Air Danau Biru

Penentuan pH air Danau Biru dilakukan di lapangan sebanyak 2 kali pada saat kemarau (Februari) dan saat hujan (Maret), dengan menggunakan pH meter tipe pena (pH-900(I)A). Hasil penentuan pH air yang di peroleh ditampilkan dalam grafik pada Gambar 1



Gambar 1. Histogram penentuan pH Air Danau Biru di 12 lokasi

Derajat keasaman (pH) dalam suatu perairan merupakan salah satu parameter kimia yang penting dalam memantau kestabilan perairan dan sangat menentukan terhadap kelarutan suatu zat didalamnya. Berdasarkan lokasi di area danau biru yang ditentukan berdasarkan GPS, ditentukan pH setiap titik dari air danau tersebut. Pengambilan sampel pada saat kemarau (Februari) pada titik 1,2,3,7,8,10 didapatkan pH yang sama yaitu 4,1, untuk titik ke 4,6,9,11,12 didapatkan pH 4,2 , dan pada titik ke 5 didapatkan pH 4,3. Sedangkan pada pengambilan sampel saat hujan (Maret) pada titik 1,2,3,4,5,6 didapatkan pH yang sama yaitu 4,3, untuk titik ke 7,8,9,10,11,12 didapatkan pH 4,2. Nilai pH pada pengambilan sampel saat hujan (Maret) relative naik dibandingkan nilai pH pada pengambilan sampel saat kemarau (Februari), hal ini disebabkan karena pada saat saat hujan (Maret) banyak sumber air yang masuk kedalam danau sehingga air didanau tersebut mengalami pengenceran. Nilai pH pada semua lokasi yang ditemukan hampir sama baik pada pengambilan sampel saat kemarau (Februari) maupun saat hujan (Maret). Hal yang menarik pada danau biru ini dimana secara umum air danau tersebut mempunyai nilai pH yang relatife rendah (asam). Hal ini disebabkan oleh akibat melarutnya material piritik (material FeS) yang teroksidasi, yang terdapat pada batubara dan akibat dari kegiatan pertambangan [4].

pH air danau biru ini rata-rata sangat rendah, masih berada dibawah standar baku mutu air menurut peraturan pemerintah No 82 tahun 2001 tentang pengelola kualitas air dan pengendalian pencemaran air. Artinya air ini tidak dapat digunakan untuk berbagai kebutuhan masyarakat.

Dari pengamatan di lapangan tidak ada fauna dan floura yang dapat hidup di air danau biru tersebut. Dikarenakan pH yang relative rendah, sehingga tidak memenuhi syarat untuk kehidupan dalam air. Nilai pH mendekati 4,6 merupakan pH terendah untuk bereproduksi, sedangkan danau biru pH rata-rata didapatkan sebesar 4,2 [5].

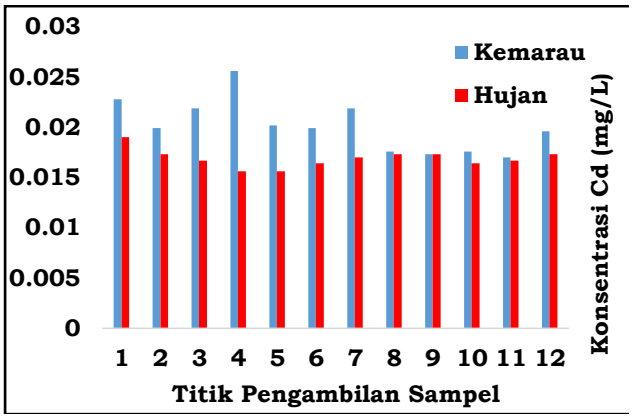
Danau biru dapat dikatakan sebagai drainase tambang asam atau *Acid Mine Drainage* (AMD) yang berasal dari oksida sulfida-sulfida, khususnya pirit dan dikarakterisasi oleh pH yang rendah dan kosentrasi SO_4^{2-} yang tinggi. Bekas tambang dapat merupakan sumber *Acid Mine Drainage* (AMD) [6].

3.2 Penentuan konsentrasi logam berat (Cd, Pb, Fe, Cu) Air Danau Biru

3.2.1 Penentuan konsentrasi logam berat Cd Air Danau Biru

Analisis penentuan konsentrasi logam Cd dalam air danau biru dilakukan dengan menggunakan SSA (spektrofotometer serapan atom). Hasil penentuan konsentrasi logam Cd ditampilkan dalam grafik yang dapat dilihat pada Gambar 2

Dari hasil penelitian ternyata pada pengambilan sampel saat kemarau (Februari) umumnya semua lokasi ditemukan konsentrasi logam Cd yang tidak berbeda yaitu antara 0,0170 mg/L - 0,0256 mg/L, dan ditemukan pada beberapa lokasi seperti DB4, DB1, DB3, dan DB7 konsentrasi logam Cd teryata relative lebih besar dari kebanyakan lokasi yang lain. Konsentrasi logam yang ditemukan pada lokasi DB4, DB1, DB3 dan DB7 masing-masing sebesar 0,0256 mg/L, 0,0227 mg/L, 0,0219 mg/L, 0,0219 mg/L. Pada pengambilan sampel saat hujan (Maret) didapatkan nilai konsentrasi logam Cd yang menurun yaitu antara 0,0156 mg/L – 0,0190 mg/L, ditemukan pada beberapa lokasi seperti DB1, DB2, DB8, DB9, DB12, dan DB7 konsentrasi logam Cd relatif lebih besar dibandingkan lokasi lainnya yaitu sebesar 0,0190 mg/L, 0,0173 mg/L, 0,0173 mg/L, 0,0173 mg/L, 0,0173 mg/L, 0,0170 mg/L.

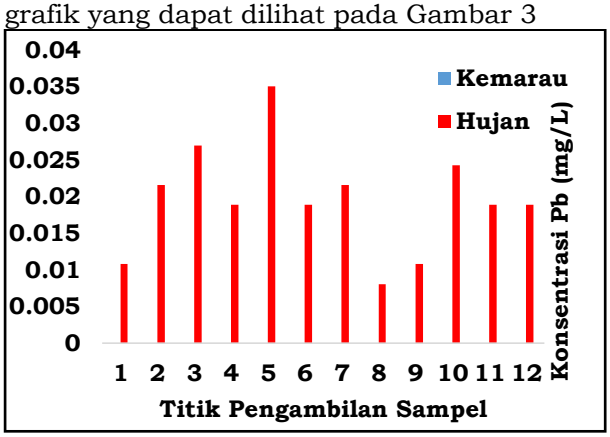


Gambar 2. Histogram konsentrasi logam Cd Air Danau Biru

Penurunan konsentrasi pada pengambilan sampel saat hujan (Maret) diakibatkan karena bertambahnya volume air danau biru akibat curah hujan (Maret) dan sumber mata air pada danau sehingga mengalami pengenceran dan penurunan konsentrasi. Perbedaan konsentrasi pada tiap sampel belum dapat dijelaskan karena air danau biru mempunyai sumber yang sama dan tidak mempunyai buangan air. Semua lokasi danau biru mengandung logam Cd yang nilainya relative lebih tinggi dari standar baku mutu air. Berarti air ini tidak dapat digunakan untuk kebutuhan masyarakat. Adanya logam berat seperti Cd dalam larutan asam merupakan hasil dari melarutnya mineral-mineral (khususnya silikat, oksida, dan sulfide) yang terdapat pada lapisan batru bara dan batu kapur [6]. Menurut standar baku mutu air (kelas I, kelas II, kelas III, kelas IV) memiliki batas maksimal konsentrasi Cd 0,0100 ppm.

3.2.2 Penentuan Konsentrasi Logam Pb Air Danau Biru

Analisis penentuan konsentrasi logam Pb dalam air danau biru dilakukan dengan menggunakan AAS. Hasil penentuan konsentrasi logam Pb ditampilkan dalam grafik yang dapat dilihat pada Gambar 3

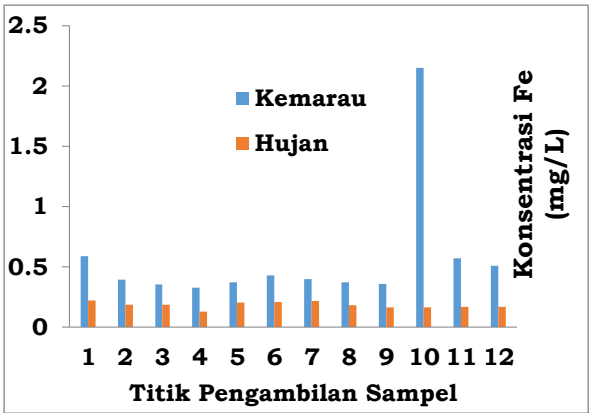


Gambar 3. Histogram konsentrasi logam Pb Air Danau Biru

Dari hasil penelitian yang diperoleh pada pengambilan sampel saat kemarau (Februari) dan hujan (Maret) secara umum terjadi penurunan konsentrasi pada logam yang bervariasi, hal ini disebabkan karena saat pengambilan sampel cuaca mendung dan hujan (Maret) lebat sehingga air danau mengalami pengenceran. Tetapi tidak pada logam Pb yang mengalami kenaikan konsentrasi. Hal ini disebabkan karena hujan (Maret) deras yang menghasilkan hujan (Maret) asam. Pada pengambilan sampel saat kemarau (Februari) hasil penentuan konsentrasi logam Pb pada air danau biru dapat dikatakan tidak terdeteksi. Dari hasil data penelitian konsentrasi logam Pb tidak ditemukan pada air danau biru di sekitar lokasi. sesuai dengan penelitian terdahulu yang mengatakan bahwa area bekas tambang batu bara dan batu kapur terdapat arsenic yang kaya dengan pirit, tetapi galena (PbS) terdapat dalam jumlah yang sangat sedikit [6]. Pada pengambilan sampel saat hujan (Maret) didapat hasil yang berbeda dimana konsentrasi Pb yang diitemukan yaitu antara 0,0081 mg/L – 0,0351 mg/L, dan ditemukan pada beberapa lokasi seperti DB5, DB3, dan DB10 konsentrasi logam Pb teryata relative lebih besar dari kebanyakan lokasi lain. Hal ini disebabkan oleh perkembangan industry dan pencemaran polusi kendaraan yang mengakibatkan hujan (Maret) asam dan pencemaran logam berat. Konsentrasi logam yang ditemukan pada lokasi DB5, DB3, dan DB10 masing-masing sebesar 0,0351 mg/L, 0,0243 mg/L, 0,0270 mg/L. Semua lokasi air danau biru mengandung logam Pb yang nilainya relative kecil dari stantar baku mutu air baik pada pengambilan sampel saat kemarau (Februari) dan hujan (Maret), tapi belum bisa dikatakan air ini bisa digunakan karena kandungan logam lainnya relative tinggi dari standar baku air.

3.2.3 Penentuan Konsentrasi Logam Fe Air Danau Biru

Analisis penentuan konsentrasi logam Fe dalam air danau biru dilakukan dengan menggunakan SSA (Spektrofotometer Serapan Atom). Hasil penentuan konsentrasi logam Fe ditampilkan dalam histogram yang dapat dilihat pada Gambar 4

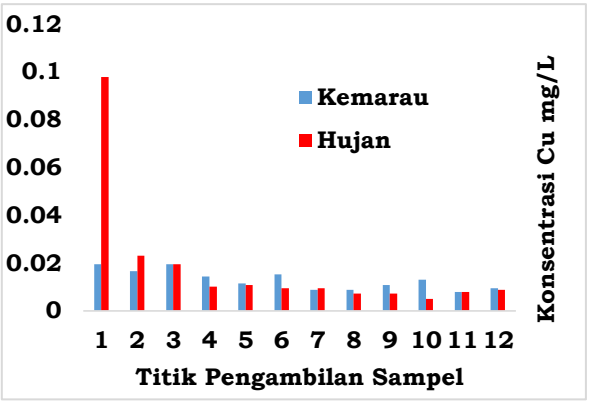


Gambar 4. Histogram konsentrasi logam Fe Air Danau Biru

Dari hasil data penelitian pada pengambilan sampel saat kemarau (Februari) konsentrasi logam Fe ternyata bervariasi pada semua lokasi dengan nilai antara 0,3269 mg/L - 2,1509 mg/L, dapat dilihat pada data 4.4 di atas. Konsentrasi logam Fe yang tertinggi terdapat pada sampel DB10 yang nilainya jauh lebih tinggi dari nilai rata-rata yang lain. Ini menunjukkan distribusi logam Fe yang tidak merata pada semua lokasi. Dapat diduga bahwa sumber pirit terdapat pada lokasi-lokasi tertentu dan ditambah lagi difusi yang lambat dari ion-ion Fe karena danau merupakan genangan air statis. Pada pengambilan sampel saat hujan (Maret) konsentrasi logam Fe mengalami penurunan, hal ini disebabkan karena meningkatnya volume air pada lokasi pengambilan sampel sehingga mengakibatkan konsentrasi Fe menurun [7]. Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi logam Fe berada di atas standar kualitas baku mutu air pada pengambilan sampel saat kemarau (Februari) dan hujan (Maret). Air Danau Biru Sawahlunto tidak dapat digunakan untuk kebutuhan masyarakat, kebutuhan lainnya dan juga kondisi pH yang sangat asam (4-5) menyebabkan sebagian logam-logam dapat larut khususnya Fe.

3.2.4 Penentuan Konsentrasi Logam Cu Air Danau Biru

Analisis penentuan konsentrasi logam Cu dalam air danau biru dilakukan dengan menggunakan SSA (spektrofotometer serapan atom). Hasil penentuan konsentrasi logam Cu ditampilkan dalam histogram yang dapat dilihat pada Gambar 5



Gambar 5. Histogram konsentrasi logam Cu Air Danau Biru

Dari hasil data penelitian pada pengambilan sampel saat kemarau (Februari) menunjukkan konsentrasi logam Cu ternyata pada semua lokasi bervariasi antara nilai 0,0086 mg/L - 0,0194 mg/L, berdasarkan titik lokasi pengambilan sampel maka DB1, DB2, DB3, DB6 dan DB10 memiliki kandungan Cu relative tinggi. Pada pengambilan sampel saat hujan (Maret) didapatkan konsentrasi logam Cu yaitu antara 0,0050 mg/L – 0,0978 mg/L. Pada pengambilan saat hujan (Maret) beberapa lokasi seperti DB1 dan DB2 ditemukan konsentrasi logam Cu ternyata relatif lebih besar dibandingkan pada lokasi pengambilan saat kemarau (Februari), hal ini disebabkan karena terpaparnya mineral sulfide (umumnya *pyrite*) terhadap air dan udara yang mangakibatkan teroksidasinya sulfur [7], sehingga mengakibatkan konsentrasi pada loksi DB1 dan DB2 lebih besar. Dari data pengambilan sampel saat kemarau (Februari) dan hujan (Maret) didapat konsentrasi logam Cu yang berada dibawah standar baku mutu air baik itu pada kelas I, II, III, dan IV. sebagaimana pada penelitian terdahulu bahwa logam Cu tidak termasuk kedalam katagori drainase tambang asam dari tambang baru bara yang biasanya mengandung konsentrasi relative kecil[28].

Sampel	Suhu (°C)		Konduktivitas (µS/cm)	
	Kemarau (Februari)	Hujan (Maret)	Kemarau (Februari)	Hujan (Maret)
DB1	30,4	27,3	14,7	12,3
DB2	30,2	27,1	10,6	8,4
DB3	30,2	27,1	9,8	7,2
DB4	30,3	27,2	15,1	13
DB5	30,6	27,4	15,1	12,2
DB6	30,7	27,5	14	11,8
DB7	29,2	26,1	13,9	11,4
DB8	29,1	26,1	10,4	8,1
DB9	29,6	26,3	10,2	8,3
DB10	29,5	26,2	15,4	13,1
DB11	29,7	26,4	11,4	9,1
DB12	30,3	27,2	14,6	12,2

3.3 Penentuan Parameter Konduktivitas Rata-rata Air Danau Biru

Dari Tabel 1 dapat dilihat bahwa pada setiap lokasi pada saat kemarau (Februari) memiliki konduktivitas antara 9,8-15,4 µS/cm dengan konduktivitas paling rendah pada DB3 dan konduktivitas paling tinggi pada DB10. Jika dibandingkan dengan saat hujan (Maret) yang memiliki konduktivitas lebih rendah yaitu berkisar antara 7,2-13,1 µS/cm dengan konduktivitas paling rendah
dan paling tingginya berada pada titik yang sama pada saat kemarau (Februari). Ini disebabkan pada saat saat hujan (Maret), jumlah air bertambah pada air danau sehingga menurunkan nilai konduktivitas pada air danau tersebut.

Tinggi rendahnya nilai konduktivitas dari air berhubungan dengan keberadaan logam-logam di dalam air danau tersebut. Hal ini sesuai dengan keberadaan masing-masing logam pada lokasi DB1, DB4, DB5 dan DB10 yang memiliki konduktivitas yang tinggi dibandingkan dengan lokasi sampel yang lain. Konsentrasi logam dalam air danau juga mempengaruhi nilai konduktivitas. Semakin tinggi konsentrasi logam maka nilai konduktivitasnya akan semakin besar. Suhu pada air danau biru juga mempengaruhi nilai konduktivitas. Semakin tinggi suhu maka nilai konduktivitas juga semakin tinggi.

Sampel	Suhu (°C)		TDS (mg/L)	
	Kemarau (Februari)	Hujan (Maret)	Kemarau (Februari)	Hujan (Maret)
DB1	30.4	27.3	3,76	3,66
DB2	30.2	27.1	3,74	3,64
DB3	30.2	27.1	3,74	3,64
DB4	30.3	27.2	3,75	3,63
DB5	30.6	27.4	3,76	3,66
DB6	30.7	27.5	3,75	3,63
DB7	29.2	26.1	3,76	3,66
DB8	29.1	26.1	3,74	3,64
DB9	29.6	26.3	3,75	3,63
DB10	29.5	26.2	3,75	3,63
DB11	29.7	26.4	3,74	3,64
DB12	30.3	27.2	3,73	3,62

Tabel 1. Nilai Konduktivitas Air Danau Biru pada Saat Kemarau (Februari) dan Saat Hujan (Maret)

3.4 Penentuan Parameter Total Dissolved Solids (TDS) Rata-rata Air Danau Biru

Dari Tabel 2 dapat dilihat bahwa pada setiap lokasi pada saat kemarau (Februari) dan hujan (Maret) memikili nilai TDS yang hampir sama. Pada saat kemarau (Februari) nilai TDS berkisar antara 3,73-3,76 mg/L sedangkan pada saat hujan (Maret) mengalani penurunan nilai TDS yaitu berkisar antara 3,62-3,66 mg/L. Penurunan nilai TDS pada saat hujan (Maret) ini dikarenakan bertambahnya jumlah air pada air danau sehingga mengurangi kekeruhan dan padatan yang tersuspensi dalam air danau sebagian larut sehingga nilai TDS mengalami penurunan. Tinggi rendahnya nilai TDS juga dipengaruhi oleh konsentrasi logam dalam air danau biru. Semakin tinggi konsentrasi logam maka nilai TDSnya akan semakin besar dan begitu sebaliknya.

Tabel 2. Nilai *Total Dissolved Solids* (TDS) Air Danau Biru pada Saat Kemarau (Februari) dan Saat Hujan (Maret)

4. Kesimpulan

Pada saat kemarau (Februari) kandungan logam yang tinggi adalah logam Fe dan Cd, sedangkan logam Cu relatif lebih rendah dan logam Pb tidak terdeteksi, pada saat hujan (Maret) kandungan logam yang tinggi adalah logam Fe, Cd, dan Pb, sedangkan logam Cu relatif lebih rendah, dan Nilai pH yang didapat pada saat kemarau (Februari) dan hujan (Maret) relatif rendah berkisar antara pH 4,1 - 4,3 dengan nilai konduktivitas berkisar antara 7,2-15,4 µS/cm dan nilai TDS diperoleh antara 362-376 mg/L, ini masih berada pada kisaran kualitas air sangat baik (nilai TDS <400).

Referensi

[1] Braun, Charles L.; Sergei N.; Smirnov: *Why Is Water Blue?*; Department of Chemistry; Hanover: Dartmouth College; 1993.

[2] Suryati; Wardiati: Aplikasi Voltametri Untuk Penentuan Logam Berat Dalam Lingkungan Indonesia; *Material SCL*; 2008; 265-270.

[3] Mokoagoum; Dolfie: *Indeks Keanekaragaman Bioda Perairan Sebagai Indicator Biologis Pencamaran Logam Berat Di Perairan Pantai Bitung, Sulawesi Utara. Manado*: Universitas Sam Ratulangi; 2008.

[4] P. Campaner, Veridiana.; Wanilson Luiz Silva; Wilson Machado: Geochemistry Of Acid Mine Drainage From A Coal Mining Area And Processes Controlling Metal Attenuation In Stream Waters, Southern Brazil: *Annals Of The Brazilian Academy Of Sciences;* 2014; 86 (2); 539-554.

[5] Murniasih, Sri.; Taftazani Agus: Evaluasi Hg, Cd, Co, Dan As Dalam Sampel Produk Agroindustry Berdasarkan Keputusan BPOM Dan ADI (*Accept Daily Intake*). PT. APB-BATAN: Yogyakarta; 2013.

[6] Diapari, D.; H. M. H. Bintoro.; J. Jachja. K. A.; Notodiputro.; M. S. Saeni: Kejadian Hujan (Maret) Asam di Kabupaten Bogor dan Retensi Timbal pada Domba Lokal yang Diberi Ransum Berkadar Timbal Tinggi. Institut Pertanian Bogor (IPB): Bogor; 2008; Hal 203-211; Vol 31; No 3.

[7] Sasongko, Dwi P.; Wildan Panji Tresna: *Identifikasi Unsur dan Kadar Logam Berat pada Limbah Pewarna Batik dengan Metode Analisis Pengaktifan Neutron.* Pusat Penelitian Lingkungan Hidup Universitas Diponegoro: Semarang. Dan Pusat Penelitian Fisika LIPI Kawasan Puspiptek: Tangerang Selatan; 2010; Vol 27.

IDENTIFIKASI SENYAWA METABOLIT SEKUNDER, UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI, DAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DARI EKSTRAK RANTING BENALU JENGKOL (*Scurrula ferruginea* (Jack) Danser)

Norman Ferdinal, Adlis Santoni, Indra*

Laboratorium Kimia Organik Bahan Alam, Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Andalas
e-mail : ferdinalnorman@yahoo.co.id

Abstrak: Identifikasi senyawa metabolit sekunder, uji aktivitas antibakteri, dan uji aktivitas antioksidan dari ekstrak ranting benalu jengkol (*Scurrula ferruginea* (Jack) Danser) telah dilakukan. Proses ekstraksi ranting benalu jengkol dilakukan dengan cara maserasi. Identifikasi metabolit sekunder pada ekstrak ranting benalu jengkol mengandung senyawa Flavonoid, fenolik, steroid, dan alkaloid. Aktivitas antioksidan dilakukan dengan metoda DPPH (*1,1-diphenyl-2-pycrilhydrazil).* Aktivitas antioksidan pada ekstrak metanol dengan nilai IC_{50} 140,278 mg/L dan ekstrak etil asetat dengan nilai IC_{50} 194,324 mg/L tergolong sedang antioksidan, pada ekstrak heksana memiliki nilai IC_{50} 303,375 mg/L tergolong lemah antioksidan. Pada uji aktivitas antibakteri menggunakan bateri *Staphylococcus Aureus* zona inhibisi terbaik ditunjukkan oleh ekstrak etil asetat pada konsentrasi 1000 mg/L dengan diameter zona inhibisi 9,7 mm. untuk bakteri *Escherichia coli* zona inhibisi terbaik terdapat pada ekstrak methanol dengan konsentrasi 1000 mg/L dengan diameter zona 8,2 mm.

Kata kunci : *Scurrula ferruginea (Jack) Danser,* metabolit sekunder, DPPH, antibakteri

1. Pendahuluan

Sumber keanekaragaman hayati di Indonesia merupakan salah satu kekayaan alam yang berperan penting dalam berbagai lapisan masyarakat. Sebagai negara dengan budaya yang masih kental akan pemanfaatan ragam tumbuhan tradisional untuk mengobati berbagai penyakit, masyarakat terutama di daerah pedesaan cenderung memakai tumbuhan sebagai obat tradisional untuk menyembuhkan berbagai penyakit. Bagian dari tumbuhan yang dapat digunakan sebagai obat-obatan seperti daun, bunga, buah, kulit batang, dan akar. Tumbuhan tersebut dapat digunakan sebagai obat karena adanya kandungan senyawa metabolit sekunder yang dimilikinya. Secara turun temurun khasiat beberapa obat tradisional sudah terbukti dan mudah didapat, namun penelitian lebih lanjut diperlukan untuk mengetahui senyawa kimia dan sifat toksisitasnya. Salah satu bahan alam atau tumbuhan yang digunakan sebagai obat tradisional adalah benal[9].

Benalu merupakan tanaman yang dianggap tidak bermanfaat karena bersifat parasit. Benalu yang mempunyai sifat sebagai parasit sering dimusnahkan karena dapat merusak tanaman inang sementara benalu sudah digunakan sebagai obat, Secara tradisional benalu digunakan antara lain sebagai obat batuk, gatal-gatal, kanker, diuretik, penghilang nyeri dan perawatan setelah persalinan[2].

Benalu dikenal berdasarkan tumbuhan inang tempat tumbuhnya seperti benalu teh, benalu duku, benalu mangga dan lain-lain (Pitoyo, 1996). Jenis inang yang berbeda berpengaruh terhadap konsentrasi dan kandungan senyawa-senyawa yang dikandung oleh benalu, hal ini disebabkan karena benalu tersebut mengambil nutrien dan senyawa pertahanan diri dari tumbuhan inang tempat tumbuhnya untuk menjaga kelangsungan hidup dan mencegah pendeteksian hewan herbivore[1].

Tumbuhan jengkol juga ditumbuhi oleh benalu seperti tumbuhan lainnya namun pada saat ini karena adanya masyarakat menggunakan tanaman benalu sebagai obat tradisional dan belum banyaknya penelitian mengenai benalu jengkol atau disebut juga *Scurrula ferruginea* (Jack) Danser yang banyak ditemukan di alam maka dilakukanlah

penelitian lanjutan dari tumbuhan tersebut.

Adapun pada penelitian ini dilakukan uji aktivitas antibakteri, uji antioksidan, serta penentuan kandungan metabolit sekunder dari ekstrak ranting benalu jengkol. Diharapkan dengan adanya penelitian ini dapat dilihat potensi antibakteri dari ekstrak ranting benalu jengkol terhadap bakteri Gram positif (*S.aureus*) dan Gram negatif (*E.coli)*, potensi antioksidan dari ekstrak ranting benalu jengkol, dan juga kandungan metabolit sekunder dari ekstrak ranting benalu jengkol.

2. Metodologi Penelitian

2.1. Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah: alat distilasi, *rotary evaporator* (Buchi), grinder, kertas saring, aluminium voil, neraca analitik (KERN), botol kaca gelap, plat KLT (Silica gel 60 F_{254}) wadah pembiakan larva, vial, spektrofotometer UV-Vis *Thermo Scientific*, spatula, pipet tetes, petridist , laminar air flow, incubator, autoklaf dan berbagai peralatan gelas yang umum digunakan di laboratorium.

2.2. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu: Metanol, Etil Asetat, n-Heksana, bubuk Magnesium, Asam Klorida (MERCK), Besi (III) Klorida(MERCK), Asam Sulfat, Akuades, Anhidrida Asetat(MERCK), Natrium Hidroksida, DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) dan asam askorbat.

2.3. Persiapan Material Tanaman

Tumbuhan benalu jengkol diperoleh dari hutan biologi Universitas Andalas dan diidentifikasi di Laboratorium Herbarium Universitas Andalas (ANDA) Jurusan Biologi, fakultas MIPA , Universitas Andalas. Bagian tumbuhan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu ranting. Sampel dipotong-potong dan dikeringanginkan pada suhu kamar, kemudian dihaluskan dengan mesin grinder dan ditimbang. Sampel yang telah berupa bubuk ±1 kg digunakan untuk isolasi senyawa metabolit sekunder.

2.4. Uji Fitokimia

Sampel segar (2 g) dipotong-potong, dimasukkan kedalam tabung reaksi dan diekstrak dengan metanol yang telah dipanaskan diatas nyala spritus. Campuran tersebut disaring dan ditambahkan kloroform:akuades (1:1) masing-masing sebanyak 5 mL, selanjutnya dikocok dan dibiarkan sampai terbentuk dua lapisan kloroform-air. Lapisan kloroform (bagian bawah) digunakan untuk pemeriksaan senyawa triterpenoid dan steroid sedangkan lapisan air (bagian atas) untuk pemeriksaan senyawa flavonoid, fenolik dan saponin.

2.4.1. Pemeriksaan Flavonoid

Sebanyak 2 mL lapisan air dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan asam klorida pekat dan beberapa butir serbuk magnesium, terbentuknya warna jingga sampai merah menunjukkan adanya flavonoid.

2.4.2. Pemeriksaan Fenolik

Lapisan air (2 mL) dimasukkan kedalam tabung reaksi, ditambah larutan besi (III) klorida dan diamati perubahan warna larutan. Apabila larutan bewarna biru atau ungu menandakan positif mengandung senyawa fenolik.

2.4.3. Pemeriksaan Saponin

Lapisan air (2 mL) dimasukkan kedalam tabung reaksi dan dikocok. Apabila terbentuknya busa yang tidak hilang (5 menit) setelah penambahan beberapa tetes asam klorida pekat, menunjukkan adanya senyawa saponin.

2.4.4. Pemeriksaan Triterpenoid dan Steroid (*Liebermann Burchard*)

Lapisan kloroform dipipet dan diteteskan pada lubang pelat tetes, ditambah asam sulfat pekat dan anhidrida asetat (*Liebermann Burchard*). Apabila larutan bewarna merah atau ungu, menandakan sampel mempunyai senyawa triterpenoid dan apabila terbentuk warna hijau atau hijau biru, menandakan sampel mengandung senyawa steroid.

2.4.5. Pemeriksaan Alkaloid

Daun miana segar (2 g) dimasukkan dalam lumpang, ditambah sedikit pasir, ditambah 10 mL kloroform dan digerus. Campuran ditambah kloroform-amoniak, dipisahkan filtrat yang terbentuk dan ditambah dengan asam sulfat. Lapisan asam dipisahkan dan ditambahkan pereaksi Mayer. Apabila timbul endapan bewarna putih maka sampel mengandung alkaloid.

2.4.6. Pemeriksaan Kumarin

Daun miana (2 g) dipotong kecil-kecil, diekstrak dengan metanol, ditotolkan pada pelat KLT menggunakan pipa kapiler dan dielusi dengan heksana : etil asetat (9:1) di dalam chamber. Pelat KLT yang telah dielusi diamati dibawah sinar UV (λ 356 nm) dan terlihat adanya fluorisensi biru dan setelah disemprot dengan NaOH,

warna biru tersebut bertambah terang maka hal tersebut menandakan adanya senyawa kumarin.

2.5. Ekstraksi ranting benalu jengkol

Sampel ranting benalu jengkol yang telah menjadi serbuk kering diekstrak menggunakan metode maserasi dengan 3 pelarut distilat yaitu methanol, heksana dan etil asetat. Proses maserasi membutuhkan maserator berupa botol cokelat ukuran 2,5 L. Sampel dimasukkan ke maserator pertama, kedua dan ketiga masing-masing sebanyak 300 gram. Lalu dimasukkan pelarut metanol ke dalam maserator pertama, pelarut etil asetat ke dalam maserator kedua dan pelarut heksana kedalam maserator ketiga sebanyak 1200 mL. Sampel dimaserasi selama 3 hari (diaduk sekali sehari). Kemudian disaring dengan kertas saring dan diulang lagi maserasi dengan pelarut yang sama. Proses maserasi dengan setiap pelarut dilakukan dengan 9 kali perendaman. Setiap maserat yang diperoleh diuapkan pelarutnya dengan *rotary evaporator* pada suhu 40 ^{o}C, kemudian hasil rotary dikumpulkan dan dikering anginkan pada suhu kamar dan ditimbang.

2.6. Uji aktivitas antioksidan ekstrak ranting benalu jengkol dengan Metode DPPH

2.6.1. Pembuatan larutan DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil)

Sebanyak 4 mg DPPH ditimbang kemudian dimasukkan kedalam labu ukur 100 mL dan dilarutkan dengan metanol sampai tanda batas sehingga diperoleh larutan DPPH 0,1 mM.

2.6.2. Pembuatan larutan ekstrak ranting benalu jengkol

Larutan uji dibuat dengan cara melarutkan 10 mg masing-masing ekstrak dengan metanol dalam labu ukur 10 mL sehingga didapatkan konsentrasi dari larutan sebesar 1000 mg/L. Selanjutnya dibuat variasi konsentrasi dari larutan uji dengan konsentrasi 6,25; 12,5; 25; 50; dan 100 mg/L. Asam askorbat dibuat variasi konsentrasi 6,25; 12,5; 25; 50; dan 100 mg/L yang digunakan sebagai kontrol positif.

2.6.3. Pengujian aktivitas antioksidan

Larutan uji diambil masing-masing sebanyak 2 mL kemudian ditambahkan 3 mL larutan DPPH dan di diamkan selama 30 menit serta campuran dihindarkan dari cahaya. Kontrol negatif pada pengujian ini yaitu 2 mL metanol ditambahkan 3 mL larutan DPPH. Campuran tersebut dipipet sebanyak 200 µL dan dimasukkan kedalam mikroplat-96. Absorban dari masing-masing konsentrasi larutan uji dan kontrol diukur pada λ 517 nm. Berdasarkan absorban yang didapatkan, dihitung % inhibisi dengan rumus berikut:

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

Setelah didapatkan nilai % inhibisi dari perhitungan, dapat ditentukan nilai IC_{50} dari setiap variasi konsentrasi larutan uji dengan menggunakan persamaan regresi yang didapatkan.

2.7. Uji aktivitas antibakteri dengan metode difusi cakram

2.7.1. Pembuatan media mueller-hinton agar

Sebanyak 7,2 gram Mueller-Hinton Agar ditimbang dan dimasukkan kedalam erlenmeyer kemudian dilarutkan dengan akuades sampai 200 mL, selanjutnya dipanaskan dan diaduk sampai larut sempurna. Setelah larut sempurna, media Mueller-Hinton agar didinginkan dan disimpan pada lemari pendingin sampai digunakan.

2.7.2. Pembuatan media nutrient agar

Sebanyak 3 (tiga) gram media nutrient agar ditimbang dan dimasukkan kedalam erlenmeyer kemudian dilarutkan dengan akuades sampai 100 mL, selanjutnya dipanaskan dan diaduk sampai larut sempurna. Setelah larut sempurna, media agar disterilkan di autoklaf kemudian dimasukkan ke dalam dua buah tabung reaksi masing-masing sebanyak 10 mL dan dibiarkan memadat pada suhu kamar dalam keadaan miring, selanjutnya diperoleh media nutrient agar miring.

2.7.3. Peremajaan bakteri uji

Pada penelitian ini bakteri yang digunakan yaitu *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Bakteri yang akan diremajakan diambil dari stok bakteri menggunakan jarum ose yang telah di sterilisasi dan ditempatkan pada medium nutrient agar miring. Kemudian di inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C didalam inkubator. Setelah 24 jam bakteri siap digunakan untuk uji selanjutnya.

2.7.4. Pembuatan larutan uji

Sebanyak 10 mg dari masing-masing sampel ditimbang dan dilarutkan dengan 10 mL etil asetat menggunakan labu ukur hingga garis batas dan diperoleh

konsentrasi larutan induk 1000 mg/L. Larutan uji dibuat dengan beberapa variasi konsentrasi melalui pengenceran bertingkat yaitu dengan konsentrasi 1000; 500; dan 250; mg/L

2.7.5. Pengujian aktivitas antibakteri

Media Mueller-Hinton Agar yang telah dibuat dipanaskan kembali hingga menjadi cair dan dimasukkan kedalam 8 tabung reaksi yang telah steril sebanyak 15 mL masing-masingnya. Kemudian disterilkan kembali dengan menggunakan autoclaf. Selanjutnya dituangkan kedalam masing-masing petridish dan dibiarkan memadat pada suhu kamar didalam laminar air flow. Masing-masing media telah padat ditetesi dengan suspensi bakteri uji dan diratakan, kemudian didiamkan hingga kering selama 15 menit pada suhu kamar didalam laminar aifflow. Kertas cakram steril dengan diameter 5 mm dibasahi dengan larutan uji, kemudian diletakan pada media tersebut dan diinkubasi pada suhu ruang selama 24 jam. Percobaan ini dilakukan dua kali pengulangan (duplo). Sebagai pembanding/kontrol positif digunakan gentamycin 40 mg/L dan kontrol negatif menggunakan etil asetat distilat. Adanya zona bening disekitar cakram menunjukkan adanya daerah hambatan pertumbuhan bakteri. Diameter zona bening diukur secara horizontal dan vertikal dengan menggunakan penggaris.

3. Hasil dan Pembahasan

3.1. Persiapan Material Tanaman

Berdasarkan hasil identifikasi tumbuhan di Herbarium Universitas Andalas (ANDA) Padang didapatkan informasi ba hwa sampel yang digunakan termasuk ke dalam famili *Loranthaceae* dan spesies *Scurrula ferruginea* (Jack) danser. Hasil identifikasi dapat dilihat pada Lampiran 6.

Sampel ranting benalu jengkol yang telah dikumpulkan dan dikeringanginkan dilakukan penggilingan menggunakan gerinda sehingga diperoleh sampel yang telah halus seberat ± 1,4 Kg. Tujuan dari penghalusan sampel ini agar luas permukaan sampel menjadi lebih besar dan senyawa kimia yang terdapat dalam sampel dapat diekstrak secara maksimal dan cepat.

3.2. Uji Fitokimia

No	Kandungan Metabolit Sekunder	Pereaksi	Ranting segar	Ekstrak		
				Metanol	Etil asetat	Heksan
1	Flavonoid	Sianidin (Bubuk Mg/ HCl)	-	+	-	-
2	Fenolik	Besi (III) klorida	+	+	+	-
3	Saponin	Air/ HCl p	-	-	-	-
4	Triterpenoid	Liebermann	-	-	-	-
5	Steroid	-Burchard	+	+	+	+
6	Alkaloid	Mayer	-	+	-	-
7	Kumarin	NaOH 1 %	-	-	-	-

Uji fitokimia dilakukan pada ranting benalu segar dan ekstrak ranting benalu. Hasil pengujian dapat dilihat pada Tabel 3.1.

Tabel 3.1 Hasil uji fitokimia ranting benalu jengkol

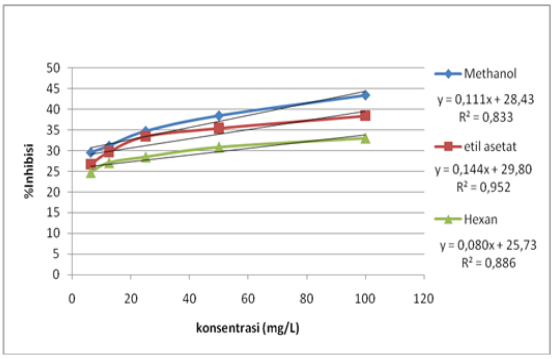
Keterangan :

+ (mengandung metabolit sekunder)

- (tidak mengandung metabolit sekunder)

3.3. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Ranting Benalu Jengkol dengan Metode DPPH

Uji aktivitas antioksidan dilakukan untuk mengetahui kapasitas senyawa aktif yang terdapat pada ekstrak untuk menangkal radikal bebas. Masing-masing ekstrak dari sampel ranting benalu jengkol diuji aktivitas antioksidannya dengan menggunakan metode DPPH dan juga pengukuran terhadap kontrol positif yaitu asam askorbat. DPPH merupakan senyawa radikal bebas yang stabil. Ekstrak ranting benalu jengkol diuji dengan menggunakan variasi konsentrasi untuk melihat penghambatan (inhibisi) terhadap radikal bebas pada DPPH. Berikut grafik aktivitas antioksidan dari ekstrak ranting benalu jengkol dapat dilihat pada Gambar 3.1



Gambar 3.1 Aktivitas antioksidan dari ekstrak ranting benalu jengkol

Aktivitas antioksidan dinyatakan dalam IC50, yaitu konsentrasi zat antioksidan yang menghasilkan persen penghambatan DPPH sebesar 50%. Nilai IC50 diperoleh melalui persamaan linier antara persen inhibisi dengan konsentrasi sampel. Semakin rendah nilai IC50 maka daya hambat ekstrak terhadap radikal bebas semakin tinggi.

Dari gambar diatas dapat dilihat bahwa semakin besar konsentrasi maka semakin besar % inhibisi yang dihasilkan. Hal ini disebabkan karena semakin besarnya konsentrasi maka semakin banyak juga senyawa aktif dalam larutan sampel yang akan menangkap radikal bebas pada DPPH sehingga sisa radikal bebas semakin sedikit dalam larutan tersebut yang yang

ditunjukkan dengan rendahnya nilai % inhibisi. Nilai konsentrasi inhibisi (IC_{50}) masing-masing ekstrak ranting benalu jengkol dapat dilihat pada Tabel 3.2.

Tabel 3.2. Nilai konsentrasi inhibisi (IC_{50}) dari ekstrak ranting benalu jengkol

No.	Ekstrak	IC_{50} (mg/L)
1.	Metanol	140,278
2.	Etil Asetat	194,324
3.	Heksana	303,375
4.	Asam askorbat	12,722

Asam askorbat memiliki nilai IC_{50} yang paling kecil dan tergolong sangat aktif antioksidan sehingga dapat dibandingkan dengan nilai konsentrasi inhibisi dari sampel yang digunakan. Semakin kecil nilai IC_{50} suatu sampel uji maka semakin tinggi daya hambatnya terhadap radikal bebas karena semakin sedikit konsentrasi sampel uji yang digunakan untuk menangkap radikal bebas sebanyak 50%. Dari data diatas memperlihatkan bahwa ekstrak metanol aktif antioksidan dibanding ekstrak etil asetat dan heksana dikarenakan kandungan senyawa kimia aktif (fenolik) yang lebih tinggi terdapat pada ekstrak metanol.

Berdasarkan data tersebut dapat disimpulkan bahwa ekstrak metanol dengan nilai IC_{50} 140,278 mg/L dan ekstrak etil asetat dengan nilai IC_{50} 194,324 mg/L tergolong sedang antioksidan, sedangkan ekstrak heksana dengan nilai IC_{50} 303,375 mg/L tergolong lemah antioksidan[12]. Penentuan nilai inhibisi dan nilai IC_{50} ekstrak ranting benalu jengkol masing-masing dapat dilihat pada Lampiran 9 .

3.4. Uji Aktivitas Antibakteri dengan Metoda Difusi Cakram

Uji aktifitas antibakteri ekstrak ranting benalu jengkol terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dilakukan dengan metode difusi cakram. Pada uji ini *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri Gram positif dan *Escherichia coli* bakteri Gram negatif, pengujian ini berfungsi untuk mengetahui potensi antibakteri yang dimiliki oleh ekstrak ranting benalu jengkol. Sebagai pembanding digunakan larutan kontrol positif yaitu *gentamycin* dengan konsentrasi 40 mg/L dan larutan kontrol negatif pelarutnya sendiri yaitu etil asetat distilat.

Uji aktifitas antibakteri dilakukan berdasarkan perbedaan konsentrasi, yang mana konsentrasi masing-masing ekstrak dibuat menjadi 3 variasi konsentrasi yaitu 250 mg/L, 500 mg/L, dan 1000 mg/L. Pembuatan konsentrasi larutan uji dapat dilihat pada lampiran 10.

Hasil pengamatan antibakteri dari ekstrak daun benalu dapat dilihat pada Tabel.3.3.

Tabel 3.3 Hasil pengamatan uji antibakteri ekstrak ranting benalu jengkol

Ekstrak	Diameter Zona Inhibisi (mm) pada Variasi Konsentrasi		
	Konsentrasi (mg/L)	Bakteri	
		Escherichia coli	*Staphylococcus aureus*
Metanol	1000	8,2	9
	500	7,9	8,1
	250	7,1	7,4
Etil Asetat	1000	7,8	9,7
	500	7,3	8,9
	250	6,6	8,3
n-Heksan	1000	8,1	9,1
	500	7,6	8
	250	6,9	7,2
Kontrol (+) *gentamicin*	40	31	47
Kontrol (-) Etil Asetat	Distilat	5	5

Kontrol negatif yang digunakan untuk ketiga ekstrak (ektrak metanol, etil asetat dan n-heksan) adalah etil asetat distilat dimana ketiga ekstrak dilarutkan dengan etil asetat distilat. Berdasarkan data tabel 4.3, dapat di lihat besarnya zona inhibisi yang terbentuk pada masing-masing bakteri uji dengan konsentrasi yang berbeda-beda.

Dari data diatas zona inhibisi terbaik pada bakteri *Escherichia coli* yaitu pada ekstrak metanol 1000 mg/L, dengan zona bening 8,2 mm dan pada bakteri *Staphylocccus aureus* zona inhibisi terbaik pada ekstrak etil asetat dengan konsentrasi 1000 mg/L, dengan zona bening 9,7 mm. Jika dibandingkan dengan kontrol positif, kemampuan ekstrak sebagai antibakteri masih jauh lebih rendah. Hal ini dapat terlihat dari zona inhibisi yang diberikan oleh kontrol positif dengan konsentrasi 40 mg/L yaitu 31 mm (*Escherichia coli)* dan 47 mm (*Staphylococcus aureus.*

Perbedaan ukuran zona inhibisi yang didapatkan terhadap konsentrasi ekstrak ini dikarenakan komponen zat-zat yang terkandung dalam ekstrak benalu jengkol dapat saling memperlemah, memperkuat, memperbaiki ataupun merubah sama sekali fungsi kerjanya. Selain itu, kualitas dan kuantitas zat-zat yang ada dalam sampel ditentukan oleh faktor-faktor lingkungan tempat tumbuh tumbuhan, seperti iklim, tanah, sinar matahari, dan kondisi pertumbuhan. Dari tabel diatas, dapat disimpulkan bahwa ekstrak ranting

benalu jengkol memiliki kemampuan yang cukup dalam menghambat pertumbuhan bakteri, baik bakteri Gram positif maupun bakteri Gram negatif[15].

4. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan pada ekstrak ranting benalu jengko, dapat ditarik kesimpulan bahwa ranting benalu jengkol segar mengandung fenolik dan steroid. Pada ekstrak metanol mengandung flavonoid, fenolik, steroid dan alkaloid. Pada ekstrak etil asetat mengandung fenolik, steroid dan alkaloid. Pada ekstrak n-heksan mengandung steroid. Pada uji aktivitas antioksidan ekstrak ranting benalu jengkol menggunakan metode DPPH menunjukkan bahwa ekstrak metanol (140,278 mg/L) dan ekstrak etil asetat (194,324 mg/L) tergolong sedang antioksidan, sedangkan ekstrak heksana (303,785 mg/L) tergolong lemah antioksidan. Dan pada uji aktifitas antibakteri ranting benalu jengkol tergolong aktif sebagai antibakteri, dapat dilihat dari zona inhibisi terbaik dihasilkan pada ekstrak etil asetat dengan konsentrasi 1000 mg/L yaitu 9,7 mm pada bakteri *Staphylococcus aureus* dan 8,2 mm pda bakteri *Escherichia coli*.

5. Ucapan Terimakasih

Penulis menyampaikan terima kasih kepada Andeska yang telah memenuhi segala kebutuha selama proses penelitian . Selanjutnya penulis juga mengucapkan terima kasih kepada rekan-rekan di Laboratorium Kimia Organik Bahan Alam serta analisnya yang telah memberikan bantuan dan fasilitas dalam penyelesaian penelitian dan penulisan jurnal ilmiah ini.

Referensi

[1] Scurrula ferruginea (Jack) Danser, Flora of China, 5:227-231, 2003

[2] Nirwana, Ardy Prian., Astirin, Okid Parama., dan Widiyani, Tetri. (2015). Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Benalu Kersen (Dendrophtoe Pentandra L. Miq.). *EL-VIVO*. 3(2):9 – 15.

[3] Devehat, F.L., Tomasi, S., Fontanel, D., Boustie, J., Flavonols from Scurrula ferruginea Danser (Loranthaceae), Z. Naturforsch., 57c:1092-1095, 2002

[4] Ladokun, O. Abiola., Oni, S. Olufunso., dan Ojezele, O. Matthew. (2015). Biochemical Composition Of Mistletoe as Affected by Hosts (Cocoa, Kola and Coffee Tree). *Rep Opinion*, 7(6):1-4.

[5] Brook, G.F., Butel, J.S., Morse, S.A. 2005. *Mikrobiologi kedokteran (Medical Microbiology*). Salemba Medika : Jakarta. 223-235.

[6] Sunaryo dan Rachman, Erlin. (2007). Keanekaragaman Jenis Benalu Parasit pada Tanaman Koleksi di Kebun Raya Eka Karya, Bali. *Berk. Penel. Hayati*: 13:1-5.

[7] Niken, W.: Pengukuran Aktivitas Antioksidan dengan Metode CUPRAC, DPPH, dan FRAP serta Korelasinya dengan Fenol dan Flavonoid pada Enam Tanaman.: Jurusan Kimia, Institut Pertanian Bogor, 2010, Hal. 1.

[8] Tristantini,; Dewi .:*Pengujian Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH pada Daun Tanjung (Mimusops elengi L).*: Yogyakarta. Pengembangan Teknologi Kimia untuk Pengolahan Sumber Daya Alam Indonesia, 2016.

[9] H.B. Sembiring.; S. Lenny.: *Aktivitas Antioksidan Senyawa Flavonoida dari Daun Benalu Kakao (Dendrophthoe pentandra (L.) Miq.).*: Medan, Universitas Sumatra Utara, 2015.

[10] Kesuma, S.; Yenrina, R.: Antioksidan Alami dan Sintetik: Padang, Andalas University Press, 2015.

[11] Siahaan, C. E. (2015). Uji Skrining Fitokimia, Aktivitas Antioksidan dan Antibakteri Ekstrak Metanol, Etil Asetat Dan n-Heksana Daun Benalu Kakao (*Dendrophthoe Pentandra* (L.) Miq.). Skripsi Sarjana Sains Universitas Sumatera Utara.

[12] Cahyaningrum, K; Husni, A; Budhiyanti, S. A:Antioxidant Activity Of Brown Seaweed (*Sargassum polycystum*) Extracts, *AGRITECH,* 2016, 2, 36

[13] Krishnarajua, A. V., Raoa, T. V. N., Sundararajua, D., Vanisreeb, M., Tsayb, H. S., and Subbaraju, G. V., Assessment of Bioactivity of Indian Medicinal Plants using Brine Shrimp (*Artemia salina*) Lethality Assay, *International Journal of Applied Science and Engineering*, 2005, 3, 2, 125-134

[14] Zuhra, C. F.; Taringan, J. B.; Sihotang, H.: Aktivitas Antioksidan Senyawa Flavonoid dari Daun Katuk (*Sauropus*

androgunus (L) Merr.), *Jurnal Biologi Sumatera,* 2008, 1, 3, 7-10.

[15] Jannata, R.H; Gunadi, A; Ermawati, T:Antibacterial Activity OfManalagi Apple Peel (*MalusSylvestris Mill.)* Extract On TheGrowth Of Streptococcus Mutans,*Jurnal Pustaka Kesehatan*, 2014, 2(1)

[16] Syahrurachman, A.: *Buku Ajar mikrobiologi Kedokteran*, Staf Pengajar Fakultas kedokteran Universitas Indonesia: Jakarta, 1994. 103, 177.

[17] Cappurino, J.G.; Sherman N. *Microbiology: A Laboratory Manual*,The Benyamin/Cummings Publishing Company. Inc.1992, 250-252.

[18] Pelczar, M.J.: *Elements of Microbiology*, McGraw-Hill: New York. 1981.

[19] Edberg, S.C.; Berger: *Tes Kerentanan Antimikroba In Vitro.* Penerbit Buku Kedokteran: Jakarta, 1986, 199-211.

[20] Khairunisa, Norman.F. Identifikasi metabolit Sekunder, Uji Aktivitas Antibakteri, Uji Toksisitas Dari ekstrak Daun Benalu Jengkol. Kimia. FMIPA. Universitas Andalas

[21] Ramadani Aldila.R, Norman.F. Identifikasi Metabolit Sekunder, Uji aktivitas Antioksidan ,dan Penentuan Kandungan Fenolik Total dari Ekstrak Daun Benalu Jengkol. Kimia. FMIPA. Universitas Andalas