PENETAPAN METABOLIT SEKUNDER DAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL DAUN MIANA SECARA SPEKTROFOTOMETER UV-VIS

Rezky Yanuarty[1], Natasya Aurelia Tobondo[1], Joni Tandi[1], Erick Budiawan[2]
[1]Program Studi S1 Farmasi, STIFA Pelita Mas Palu
[2]Program Studi D3 Farmasi, STIFA Pelita Mas Palu

Email : natasyatobondo@gmail.com

ABSTRACT

This study aims to determine the content of secondary metabolites, total levels of secondary metabolites, and antioxidant activity contained in the ethanol extract of Miana leaves. Determination of total secondary metabolite levels by UV-Vis spectrophotometry and antioxidant testing using the DPPH method. The results of the qualitative analysis of the ethanol extract of mianat leaves were for secondary metabolites of flavonoids, saponins, tannins, alkaloids, and polyphenols. The results also obtained the average value of the total secondary metabolites of flavonoid compounds 0,2163% w/w,saponins 0,5510% w/w, tannins 0.9152% w/w and alkaloids 12,66% w/w. The analysis of the antioxidant activity of the ethanol extract of Miana leaves and quercetin as a comparison have antioxidant activity against DPPH, average IC_{50} of 56.96 ppm and quercetin IC_{50} of 17,20 ppm, classified as strong antioxidants.

Keywords*: Coleus atropurpureus* Benth*, secondary metabolites, DPPH, antioxidants,* IC_{50}

ABSTRAK

Penelitian ini bermaksud untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder, kadar total metabolit sekunder dan aktivitas antioksidan yang terkandung pada ekstrak etanol daun miana (*Coleus atropurpureus* Benth). Metabolit sekunder dari tumbuhan berperan sebagai antioksidan, antikanker, antibiotik, dan bisa menghambat efek karsinogenik. Penetapan kadar total metabolit sekunder secara spektrofotometri UV-Vis dan pengujian antioksidan dengan metode DPPH. Hasil uji analisis secara kualitatif ekstrak etanol daun miana (*Coleus atropurpureus* Benth) terkandung senyawa metabolit sekunder yaitu flavonoid, saponin, tanin, alkaloid dan polifenol. Nilai rata-rata yang didapatkan kadar total metabolit sekunder senyawa flavonoid 0,2163% b/b, saponin 0,5510% b/b, tanin 0,9152% b/b dan alkaloid 12,66% b/b. Hasil pengujian aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun miana (*Coleus atropurpureus* Benth) dan kuersertin sebagai pembanding mempunyai aktivitas antioksidan terhadap DPPH, hasil rata-rata IC_{50} 56,96 ppm dan kuersertin IC_{50} 17,20 ppm, tergolong antioksidan kuat.

Kata Kunci : *Coleus atropurpureus* Benth, Metabolit sekunder, DPPH, Antioksidan, IC_{50}

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara yang terkenal akan keanekaragaman hayatinya. Keberadaan hutan yang luas dan iklim tropis yang kondusif menjadi salah satu pemicu tumbuhnya berbagai flora Indonesia. Di antara banyak flora yang tumbuh di Indonesia, ada ribuan di antaranya yang dikenal masyarakat Indonesia sebagai obat yang mujarab untuk mengobati berbagai penyakit. Puluhan tahun yang lalu, masyarakat dunia, tidak hanya di Timur tetapi juga di Barat, mulai melihat ke belakang dan menaruh minat pada penggunaan obat-obatan alami, yang kita sebut gerakan kembali ke alam (Tandi, 2018).

Metabolit sekunder merupakan molekul kecil yang bersifat spesifik, memiliki fungsi dan peran yang berbeda. Metabolit sekunder dari tumbuhan berguna untuk antioksidan, tumor, antibiotic, dan dapat meredam pengaruh karsinogenik. Berbagai macam metabolit sekunder antara lain flavonoid, alkaloid, terpennoid, steroid, saponnin, tannin dan lain-lain (Tandi, 2020).

Antioksidan adalah senyawa yang dapat menghambat reaksi oksidasi dengan mendonorkan elektron kepada radikal bebas untuk menghambat kerusakan sel. Penggunaan antioksidan alami mencegah berkembangnya radikal bebas di dalam tubuh (Misfadhila, 2019).

Salah satu tanaman yang dapat dimanfaatkan dalam pengobatan tradisional adalah daun miana (*Coleus atropurpureus* Benth) berkhasiat sebagai pereda batuk, perangsang nafsu makan, dan penetralisir racun (antitoksik), mengatasi diabetes, dapat mengobati sakit perut dan mulas, serta dapat mengatasi gangguan saat menstruasi (Husnul dkk, 2018).

Penelitian sebelumnya tentang miana oleh Afifah D N, dkk tahun 2018 uji aktivitas ekstrak etanol daun miana (*Coleus atreopurpureus* Benth) dapat disimpulkan fraksi etil asetat daun miana memiliki aktivitas antioksidan terhadap radikal DPPH dengan nilai IC_{50} 33,768 ppm. Berdasarkan data tersebut, hubungan linier antara konsentrasi persen peredaman pada fraksi etil asetat daun miana, diperoleh IC_{50} 33,768 ppm. Penelitian Hardianti Y 2013 Pengaruh aktivitas antioksidan daun miana dalam menangkal radikal bebas menyatakan aktivitas antioksidan paling tinggi pada ekstrak metanol ditambahkan dengan asam klorida (HCl) sebesar 84,64% dengan nilai IC_{50} sebesar 0,02% (b/v) (Nurhikmah, 2020).

Berdasarkan uraian diatas peneliti tertarik untuk melakukan penelitian

tentang penetapan kadar metabolit sekunder dan antioksidan ekstrak etanol daun miana (*Coleus atropurpureus* Benth) secara spektrofotometri UV-Vis. Dikarenakan, penggunaan daun miana (*Coleus atropurpureus* Benth) sebagai obat herbal, maka peneliti tertarik untuk melakukan penelitian lebih lanjut mengenai daun miana (*Coleus atropurpureus* Benth) dengan melakukan penetapan kadar senyawa metabolit sekunder dan nilai IC_{50} untuk uji aktivitas antioksidan yang terkandung dalam daun miana (*Coleus atropurpureus* Benth) dengan metode dpph 1,1- diphenyl-2-picrylhidrazil dengan menggunakan metode spektrofotometer UV-Vis.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat

Ayakan mesh 40 (ABM sieve analys), batang pengaduk (Pyrex), blender (Cosmos), cawan porselin (Handenwanger), corong kaca (Pyrex), Erlenmeyer (Pyrex), gelas kimia (Duran), gelas ukur (Iwaki), gunting (Joyko), labu ukur (Pyrex), mortir dan stamper (Onemed), penangas air (Memmert), pipet tetes (Onemed), pipet mikro (Nesco dragon), Rotary vacum evaporato (heidoph), tabung reaksi (Duran), timbangan analitik (vernier), spektrofotometer Uv-Vis (Thermo scientific), wadah (Canister TP5).

Bahan

Aquadest (PT. Tirta Fresindo Jaya), Asam klorida 2 N (PT. Brataco), Asam klorida pekat (PT. Indoaji Pratama), Bromocresol green (BCG) (PT. Brataco), Etanol 96% (PT. Indoaji Pratama), Etanol p.a (pro analis) (PT. Indoaji Pratama), HCl 2 N (PT. Anugrah Putra Kencana), serbuk simplisia daun binahong (Anredera cordifolia Steenis), Dragendorff (PT. Indoaji Pratama), DPPH (PT. Indoaji Pratama), Kuersertin (PT. Brataco), NaCl 10% (PT. Indoaji Pratama), FeCl3 (PT. Indoaji Pratama), Handscoen (PT. Mersi Farma), Masker (PT. Mersi Farma), magnesium P (powder) (PT. Brataco), Kapas (PT. Mersi Farma), Alumunium foil (PT. Mersi Farma), Tisu (PT. Mersi Farma).

Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Miana

Pembuatan ekstrak etanol daun miana (*Coleus atropurpureus* Benth) yang berasal dari desa Alitupu, kecamatan Lore Utara, kabupaten Poso. Ekstrak etanol daun miana (*Coleus atropurpureus* Benth) dibuat dengan cara maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Ditimbang 1000 gram bubuk daun miana, lalu dimaserasi menggunakan pelarut etanol 96% sejumlah 3 liter sepanjang

tiga hari. Semasa penggenangan ekstrak setiap hari dicampurkan. Ekstrak lalu ditapis menggunakan kertas tapis sampai campuran berpisah dari sepah (residu). Filtrat yang didapatkan dikentalkan memakai alat *rotary evaporator* dengan temperatur hawa 60°C lalu menguapkan dengan *waterbath* di temperatur hawa 60°C demi meniadakan solven jika tertinggal di ekstrak hingga didapatkan ekstrak pekat.

Uji Penapisan Fitokimia

a. Uji Alkaloid

Ekstrak etanol daun miana (*Coleus atropurpureus* Benth) masing masing ditimbang sebanyak 0,5 gram, kemudian ditambahkan 1 ml asam klorida 2N dan 9 ml aquadest, dipanaskan di atas penangas air selama 2 menit, didinginkan lalu disaring. Filtrat dipakai untuk tes alkaloid reaksi dimasukkan 0,5 ml filtrat pada tabung reaksi. Tabung ditambahkan 2 tetes pereaksi dragendorff Terbentuknya, endapan jingga menunjukkan adanya alkaloid (Hasibuan dkk, 2020).

b. Uji Flavonoid

Ekstrak etanol daun miana (*Coleus atropurpureus* Benth) masing masing ditimbang sebanyak 0,5 gram ditambahkan 10 ml aquadest .dan dipanaskan di atas penangas air kemudian disaring, selanjutnya dilarutkan dalam 1 ml etanol (95%) dengan penambahan serbuk magnesium P, dilarutkan dalam 10 ml asam klorida pekat P, jika terjadi warna merah ungu menunjukkan adanya flavonoid dan jika terbentuknya warna kuning, merah dan jingga (Widuri, 2018).

c. Uji Saponin

Ekstrak etanol daun miana (*Coleus atropurpureus* Benth) ditimbang sebanyak 0,5 gram lalu dimasukan kedalam tabung reaksi dan ditambahkan 10 ml aquadest yang di panaskan kemudian dinginkan lalu dikocok kuat-kuat selama 10 detik, timbul busa tidak kurang dari 10 menit setinggi 1-10 cm, ditambahkan 1 tetes asam klorida 2N, bila buih tidak hilang menunjukan adanya saponin (Hasibuan dkk, 2020).

d. Uji Tanin

Ekstrak etanol daun miana (*Coleus atropurpureus* Benth) masing masing ditimbang sebanyak 0,5 gram lalu dimasukkan ke dalam cawan porselin, kemudian ditambahkan dengan 20 mL air panas dan larutan NaCl 10% sebanyak 3 tetes. Selanjutnya menambahkan larutan FeCl3, bila terbentuk warna biru hitam menandakan adanya tanin (Rizaldy, 2020)

e. Uji Steroid

Uji fitokimia senyawa steroid dilakukan dengan ekstrak etanol daun miana (*Coleus atropurpureus* Benth) ditimbang sebanyak 0,5 gram dilarutkan dengan 5 ml air kemudian ditambahkan beberapa tetes kloroform, asam asetat anhidrat dan asam sulfat melalui dinding tabung reaksi. Hasil positif ditandai dengan perubahan warna hijau kebiruan (Rizaldy, 2020**).**

Uji Kuantitatif

a. Uji Alkaloid

Pembuatan Kurva Baku Standar

Menimbang larutan standar kuinin sebanyak 10 mg dan ditambahkan 5 ml HCl 2 N, kocok kemudian saring. Mencuci larutan dengan 10 ml kloroform sebanyak 3 kali dalam corong pisah dan ambil fase kloroform. Lalu netralkan larutan dengan menambahkan NaOH 0,1 N. Kemudian tambahkan 5 ml larutan BCG dan 5 ml Buffer Phosphat, lalu ekstraksi larutan dengan 5 ml kloroform, aduk menggunakan pengaduk magnetik stirer dengan kecepatan 500 rpm selama 15 menit. Ulangi ekstraksi dengan kloroform sebanyak 2 kali dan kumpulkan fase kloroform, kemudian tambahkan dengan kloroform hingga volume 10 ml. Sehingga didapatkan larutan standar 1000 ppm. Encerkan standar mulai dari 25, 50, 100, 200, 400 ppm. Melakukan penentuan panjang gelombang maksimum (Dewi, 2020).

Penetapan Uji Total Alkaloid

Ekstrak etanol daun miana (*Coleus atropurpureus* Benth) sebanyak 0,1 g dan tambahkan 5 ml HCl 2 N, kocok lalu mencuci larutan dengan 10 ml kloroform sebanyak 3 kali dalam corong pisah. Ambil fase kloroform dan netralkan larutan dengan menambahan NaOH 0,1 N. Kemudian tambahkan 5 ml larutan BCG dan 5 ml Buffer Phosphat. Ekstraksi larutan dengan 5 ml kloroform, aduk menggunakan pengaduk magnetik stirer dengan kecepatan 500 rpm selama 15 menit. Mengulang ekstraksi dengan kloroform sebanyak 2 kali dan kumpulkan fase kloroform. Kemudian dicukupkan dengan kloroform hingga volume 10 ml. Membaca serapan pada panjang gelombang 418 nm (Dewi, 2020).

b. Uji Flavonoid

Pembuatan Kurva Baku Standar

Ditimbang bahan baku standar kuersetin 10,0 mg lalu tambahkan 0,3 ml natrium nitrit 5% setelah 5 menit tambahkan 0,6 ml aluminium klorida 10%, tunggu 5 menit tambahkan 2 ml natrium hidroksida 1M 1 ml tambahkan dengan aquades hingga 10 ml dalam labu takar. Sehingga didapatkan larutan standar 100 ppm. Encerkan standar mulai dari 2, 4, 6, 8, 12 ppm.

Melakukan penentuan panjang gelombang maksimum (Dewi, 2020).

Penetapan Uji Total Flavonoid

Ekstrak etanol daun miana (*Coleus atropurpureus* Benth) diambil sebanyak 0,1 gram, lalu tambahkan 0,3 ml natrium nitrit 5% setelah 5 menit tambahkan 0,6 ml aluminium chlorida 10%, tunggu 5 menit tambahkan 2 ml natrium hidroksida 1M 1 ml tambahkan dengan aquades hingga 10 ml dalam labu takar (Dewi, 2020).

c. Uji Saponin

Pembuatan Kurva Baku Standar

Menimbang standar saponin 10 mg, tambahkan aquades sebanyak 5 ml, ekstraksi dengan vortex selama 5 menit. Kemudian tambahkan 50 µl anisaldehid, kocok kemudian diamkan selama 10 menit, lalu ditambahkan 2 ml asam sulfat 50%, panaskan pada penangas air pada suhu 60°C selama 10 menit, kemudian di cukupkan dengan aquades hingga 10 ml pada labu takar. Sehingga didapatkan larutan standar 100 ppm. Encerkan standar mulai dari 12.5, 25, 50 dan 100 nm. Melakukan penentuan panjang gelombang maksimum (Dewi, 2020).

Penetapan Uji Total Saponin

Ekstral etanol daun miana (*Coleus atropurpureus* Benth) 0,1 g, tambahkan 2 ml H_2SO_4 25%, autoklaf 120 menit dengan suhu 110°C, lalu diekstraksi dengan eter, kemudian dikeringkan filtrate, tambahkan aquades sebanyak 1 ml, ekstraksi selama 5 menit, tambahkan 50 µl anisaldehid, kocok kemudian diamkan selama 10 menit. Tambahkan 2 ml asam sulfat 50%, lalu panaskan diatas penangas air pada suhu 60°C selama 10 menit. Kemudian di cukupkan dengan aquades hingga 10 ml, encerkan 10 kali (Dewi, 2020).

d. Uji Tanin

Pembuatan Kurva Baku Standar

Menimbang dengan seksama asam tanin 10 mg, menambahkan dengan 10 ml reagen folin ciocalteu dan diaduk menggunakan magnetic stirrer selama 5 menit. Menambahkan dengan larutan natrium carbonat 20%, cukupkan sampai volume 100 ml. Sehingga didapatkan larutan standar 100 ppm. Sehingga didapatkan larutan standar 100 ppm. Encerkan sesuai konsentrasi kurva standar. Dilakukan pengenceran mulai dari 15, 20, 25, 30 dan 35 ppm. Melakukan penentuan panjang gelombang maksimum (Tandi J, 2020).

Penetapan Uji Total Tanin

Ekstrak etanol daun miana (*Coleus atropurpureus* Benth) diambil sebanyak 0,1 gram, ekstraksi dengan 10 ml Diethyl eter, kemudian disaring. Uapkan sisa diethyl eter, tambahkan aquades ke dalam sampel hingga volume 10 ml. Ambil 1 ml larutan

sampel tambahkan dengan 0,1 ml reagen Folin Ciocalteu dan vortex, tunggu 5 menit. Kemudian cukupkankan dengan aquades hingga volume 10 ml. Melakukan penentuan panjang gelombang maksimum setelah diinkubasi selama 30 menit pada suhu kamar (Tandi J,2020).

Uji Aktivitas Antioksidan

a. Pembuatan Larutan DPPH 0,1 M

Dilakukan penimbangan DPPH 0,004 gram, lalu masukan kedalam labu ukur kemudian dilarutkan dengan pelarut etanol 96% hingga 100 ml sehingga di perloleh larutan DPPH 0,1 M. Setelah itu dilakukan pengenceran lagi, dengan cara mengambil larutan DPPH 0,1 M sebanyak 200 µl dimasukkan ke dalam labu ukur 200 ml lalu ditambahkan etanol 96% sampai tanda batas sehingga diperoleh DPPH konsentrasi 0,1 mM (Handayani dkk, 2020).

b. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Diambil etanol 96% sebagai pelarut sampel sebanyak 4 ml dimasukan kedalam tabung reaksi tambahkan DPPH 0,1 mM dengan konsentrasi sebanyak 3 ml lalu diinkubasi pada suhu 37ºC, selama 1 menit, setelah itu dimasukkan dalam kuvet, dicari panjang gelombang maksimal pada rentang panjang gelombang 400-600 nm menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Panjang gelombang yang didapatkan yaitu 517 nm (Handayani dkk, 2020).

c. Waktu Kestabilan Pengukuran Antioksidan

Mengambil larutan ekstrak etanol daun miana (*Coleus atropurpureus* Benth) 100 ppm kemudian diambil sebanyak 1 ml, larutan ditambahkan larutan DPPH konsentrasi 0,1 mM sebanyak 1 ml lalu diinkubasi pada suhu 37oC larutan yang diperoleh dipipet ke dalam kuvet, kemudian dicari waktu kestabilan pada rentang waktu 5-30 menit dengan interval 5 menit pada panjang gelombang 517 nm (Suriyawati, 2020) .

d. Pengukuran Absorbansi Kontrol

Mengambil 4 ml larutan DPPH konsentrasi 0,1 mM kemudian ditambahkan 4 ml etanol lalu di homogenkan dan divortex selama 10 menit, kemudian membaca absorbansinya dengan Spektrofotometri Uv-Vis pada panjang gelombang maksimal dengan etanol sebagai blanko (Handayani dkk., 2020).

e. Pembuatan Larutan Induk Kuesertin Konsentrasi 100 ppm

Kuersertin digunakan sebagai pembanding ditimbang Sebanyak 5 mg kuersetin dimasukan pada gelas kimia dan dilarutkan dalam etanol 96% lalu dimasukan dalam labu ukur 50 ml

volume dicukupkan hingga tanda batas (Nurhikmah, 2020).

f. Pengukuran Aktivitas Antioksidan Pembanding

Larutan induk kuersertin 100 ppm dibuat pengenceran seri konsentrasi dengan kosentrasi 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm, dan 80 ppm dan 100 ppm dari larutan induk 100 ppm diambil 1 ml, kemudian ditambahkan larutan DPPH konsentrasi 0,1 mM sebanyak 4 ml kemudian vortex selama 1 menit dan didiamkan selama 25 menit, lalu dibaca absorbansinya pada panjang gelombang 517 nm, dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali (Handayani dkk., 2020).

g. Pembuatan Larutan Ekstrak 1000 ppm

Ekstrak daun Miana *(Coleus atropurpureus* Benth.) di timbang masing masing 10 mg dilarutkan dengan 10 ml etanol 96% lalu dimasukan kedalam labu ukur 10 ml, lalu dicukupkan volume hingga tanda batas dengan etanol 96% sehingga diperoleh larutan konsentrasi 1000 ppm (Handayani dkk, 2018).

h. Pengukuran Aktivitas Antioksidan Larutan Ekstrak

Larutan induk ekstrak etanol etanol daun miana *(Coleus atropurpureus* Benth) dibuat seri konsentrasi 20, 40, 60, 80, 100 ppm dengan menambahkan 10 ml etanol dari larutan induk 1000 ppm masing masing sampel kemudian diambil sebanyak 1 ml lalu ditambahkan DPPH 0,1 mM sebanyak 4 ml lalu divorteks kemudian diinkubasi selama waktu kestabilan yang diperoleh, kemudian mengukur absorbansi pada panjang gelombang maksimum yang diperoleh (Handayani dkk, 2018).

i. Penentuan Presentase Perendaman

Aktivitas penangkal radikal bebas dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\%\text{inhibisi radikal DPPH} = \frac{\text{Absorban kontrol - Absorban bahan uji}}{\text{Absorban kontrol}} \times 100$$

j. Analisis Data (Penentuan Nilai IC50)

Nilai IC_{50} merupakan bilangan yang menunjukkan konsentrasi sampel uji yang memberikan peredaman sebesar 50% (mampu menghambat atau meredam proses oksidasi sebesar 50%). Nilai IC_{50} ditentukan dengan cara dibuat kurva linear antara konsentrasi larutan uji (sumbu x) dan % peredaman (sumbu y) dari persamaan y = a + bx dapat di hitung nilai. (Handayani dkk., 2020). IC_{50} =(50 - a)/(b)

Hasil dan Pembahasan

Hasil

Tabel 1. Hasil Percobaan Kualitatif Ekstrak Etanol Daun Miana

No	Kandungan Kimia	Pereaksi	Hasil Pengamatan	Ket
1	Flavonoid	Etanol 95% + serbuk Magnesium dan HCl pekat	Terbentuk warna merah ke keunguan	(+)
2	Saponin	Dikocok + HCl 2 N	Terbentuk buih yang menetap tidak kurang 1 menit	(+)
3	Tanin	NaCl 10%+ $FeCl_3$	Terbentuk warna biru kehitaman	(+)
4	Alkaloid	HCL + Pereaksi Dragendroff	Endapan kuning orange sampai merah bata	(+)
5	Steroid	Kloroform + Asam Asetat Unhidrate + asam sulfat	Tidak terjadi perubahan warna	(-)

Tabel 2. Hasil Percobaan Kuantitatif Ekstrak Etanol Daun Miana

No	Parameter Uji	Hasil (%b/b)	Persamaan Regresi
1	Total Flavonoid Ekuivalen Quercetin	0,2163	y = 0.1338x + 0.3428 R^2 = 0.9963
2	Saponin From Sapogenin	0,5510 %	y = 0.0729x + 0.6874 R^2 = 0.9814
3	Total Tanin Ekuivalen Tannic Acid	0,9152 %	y = 0.0394x - 0.1944 R^2 = 0.9926
4	Total Alkaloid Ekuivalen Kuinin	12,66 %	y = 0.0012x + 0.0513 R^2 = 0.9997

Tabel 3. Hasil Uji Antioksidan dengan Pembanding Quesertin

Sampel Uji	Konsentrasi ppm	% inhibisi	IC50 ppm	Jenis Antioksidan
Replikasi 1 Kuersetin	20	50.38		
	40	60.72		
	60	72.27	16,40	Sangat Kuat
	80	80.74		
	100	86.57		
Replikasi 2 Kuersetin	20	50.27		
	40	60.94		
	60	71.83	17,75	Sangat Kuat
	80	82.61		
	100	88.99		
Replikasi 3 Kuersetin	20	50.16		

	40	60.61		
	60	71.94	17,47	Sangat Kuat
	80	82.61		
	100	87.56		
Rata-Rata SD			17,20	Sangat Kuat

Keterangan : SD = Standar Deviasi

Tabel 4. Hasil Uji Antioksidan dengan Pembanding Quesertin

Sampel Uji	Konsentrasi ppm	% inhibisi	IC50 ppm	Jenis Antioksidan
Replikasi 1 Ektsrak Etanol	20	17,98		
Daun Miana	40	42,18		
	60	51,72	56,40	Kuat
	80	68,87		
	100	84,23		
Replikasi 2 Ekstrak Etanol	20	22,68		
Daun Miana	40	35,68		
	60	50,34	52,07	Kuat
	80	65,56		
	100	83,54		
Replikasi 3 Ekstrak Etanol	20	17,28		
Daun Miana	40	35,96		
	60	49,51	62,42	Kuat
	80	64,17		
	100	78,14		
Rata-Rata SD			56,96	Kuat

Keterangan : SD = Standar Deviasi

Pembahasan

Penelitian ini menggunakan bahan uji daun miana (*Coleus atropurpureus* Benth) yang di peroleh dari Desa Alitupu, kecamatan Lore Utara, kabupaten Poso, Provinsi Sulawesi Tengah. Awalnya sudah diidentifikasi di unit pelaksana teknis sumber daya hayati sulawesi. Identifikasi yang diperoleh membuktikan betul yang dipakai ialah tanaman miana (*Coleus atropurpureus* Benth). Percobaan ini bermaksud agar mengetahui adanya senyawa metabolit sekunder, persentase senyawa metabolit sekunder dan nilai IC_{50} keaktifan antioksidan dalam ekstrak etanol daun miana (*Coleus atropurpureus* Benth).

Metode ekstraksi yang dipakai pada percobaan merupakan metode ekstraksi secara dingin yakni maserasi. Maserasi ialah cara pengekstrakan simplisia memakai solven organik dilakukan melalui sejumlah pencampuran. Proses ekstraksi dengan metode maserasi ini dilakukan pada suhu ruangan (15-25℃). (Widuri, 2018).

Prosedur spektrofotometri UV-Vis dipakai dalam memastikan kadar

senyawa metabolit sekunder pada ekstrak etanol daun miana (*Coleus atropurpureus* Benth). Spektrofotometri UV-Vis ialah penakaran resapan sinar di wilayah UV beserta cahaya nyata pada senyawa. Penetapan jumlah keseluruhan kadar yakni penetapan jumlah kadar senyawa metabolit sekunder yaitu senyawa flavonoid, senyawa saponin, senyawa tanin, senyawa allkaloid.

Analisis secara kualitatif metabolit sekunder senyawa flavonoid dalam ekstrak etanol daun miana (*Coleus atropurpureus* Benth) dilakukan menggunakan reaktan Mg serta HCl pekat nyata terdapat senyawa fllavonoid yang terwujudkan larutan bercorak merah ungu. Analisis secara kualitatif metabolit sekunder senyawa saponin pada ekstrak etanol daun miana (*Coleus atropurpureus* Benth) didapatkan senyawa saponin pertanda gelembung berdiam tak <1 menit di waktu sampel diberikan asam klorida lalu diaduk. Analisis secara kualitatif metabolit sekunder senyawa tanin dalam ekstrak etanol daun miana (*Coleus atropurpureus* Benth) yang dilakukan menggunakan $FeCl_3$ didapatkan adanya senyawa tannin yang terwujudnya corak biru gelap. Analisis kualitatif metabolit sekunder senyawa alkaloid dalam ekstrak etanol daun miana (*Coleus atropurpureus* Benth) dilakukan dengan menggunakan reaktan dragendroff didapatkan adanya senyawa alkaloid dan terwujudnya endapan kuning orange sampai merah bata. (Emelda, 2019).

Penetapan kadar total flavonoid dilakukan dengan menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis. Kuersetin digunakan sebagai baku standar dengan konsentrasi 2, 4, 6, 8, dam 12 ppm pada panjang gelombang 403 nm. Penetapan kadar flavonoid total diperoleh persamaan regresi y = 0.1338x + 0.3428 dan koefisien relasi (r2)=0,9963. Dari Persamaan Regresi, dibuat penjumlahan kadar flavonoid total ekstrak etanol daun miana (*Coleus atropurpureus* Benth) sebanyak tiga kali replikasi. Diperoleh hasil rata-rata kadar total flavonoid sebesar 0,2673% b/b. Flavonoid memiliki manfaat bagi dunia kesehatan sebagai antifungi, antihistamin, antihipertensi, antibakteri, antivirus dan sebagainya (Emelda, 2019).

Penetapan kadar total saponin dilakukan dengan menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis. Penetapan kadar saponin total diperoleh persamaan regresi y= 0.0729x + 0.6874 dan koefisien relasi (R2)=0,9814. Dari persamaan regresi diatas, dibuat perhitungan kadar saponin ekstrak etanol daun miana (*Coleus atropurpureus* Benth)

sebanyak 3 kali replikasi. Diperoleh hasil rata-rata kadar total saponin sebesar 0,5296% b/b. Saponin mempunyai efek farmakologi yakni bisa menurunkan kolesterol, memiliki sifat antioksidan, antiinfeksi, dan karsinogen.

Penetapan kadar tanin total dilakukan secara spektrofotometri UV Vis. Penetapan kadar total tanin dilakukan dengan menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis. Penetapan kadar saponin total diperoleh persamaan regresi y=0,0651x-0,0418 dan koefisien relasi (R2)=0,9962. Dari persamaan regresi dibuat perhitungan kadar tanin sampel ekstrak etanol daun Miana (*Coleus atropurpureus* Benth) sebanyak 3 kali replikasi. Diperoleh hasil rata-rata kadar total tanin sebesar 0,9152% b/b. Senyawa tanin bisa di manfaatkan untuk mengatasi ganguan pencernaan, meredakan hemoragi, serta menangkal inflamasi dalam oral mukosa (Putri, 2019).

Penetapan kadar alkaloid total dilakukan secara spectrofotometri UV-Vis. Penetapan kadar total alkaloid dilakukan dengan menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis. Penetapan kadar alkaloid total diperoleh persamaan regresi y= 0.0012x + 0.0513 dan koefisien relasi (R2)=0,9997. Dari persamaan Regresi diatas, dibuat perhitungan kadar alkaloid total ekstrak etanol daun Miana (*Coleus atropurpureus* Benth) sebanyak 3 kali replikasi. Diperoleh hasil rata-rata kadar total alkaloid sebesar 12,66% b/b. Fungsi alkaloid dalam bidang farmakologis ialah untuk perangsang jaringan kompleks, antitusif, sediaan steril, sedative, antimalaria, tumor serta anti fungi.

Pengujian keaktifan antioksidan ekstrak etanol daun Miana (*Coleus atropurpureus* Benth) bertujuan agar mendapatkan nilai IC_{50} untuk keaktifan antioksidan pada ekstrak etanol daun Miana (*Coleus atropurpureus* Benth). Pengujian dibuat secara metode DPPH (*1-1-Diphenyl-2-Picrylhidrazil)* yakni metode sangat efisien dibandingkan dengan cara lain. Pembanding yang digunakan ialah kuersetin yakni antioksidan sangat kuat (Maesaroh, 2018).

Percobaan keaktifan antioksidan dengan membuat larutan DPPH, kemudian membuat larutan induk kuersetin konsentrasi 100 ppm. Kemudian dilakukan pengukuran aktivitas antioksidan pembanding dan pengukuran absorbansi sampel ekstrak etanol daun Miana (*Coleus atropurpureus* Benth) dengan memakai alat spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm.

Nilai IC_{50} ialah besarnya

konsentasi senyawa yang di uji bisa meredam radikal bebas sebanyak 50%. Persentasi penghambat radikal bebas (% inhibisi) bisa dihitung dari nilai absorbansi yang diperoleh. Kemudian dibuat Persamaan Regresi Linear y= bx+a dimana konsentrasi menjadi Sumbu x serta absorbansi menjadi Sumbu y. Persentase Inhibisi atau %Inhibisi mendeskripsikan kesanggupan senyawa antioksidan dalam sampel guna mencegah radikal bebas di konsentrasi larutan coba. Nilai IC_{50} didapatkan pada Persamaan Regresi linear yang didapatkan melalui penggantian sumbu Y dengan 50 (Purwanto, 2017).

Berdasarkan tabel 4.3 didapatkan nilai IC_{50} kuersetin replikasi 1 yaitu 16,40 ppm, replikasi 2 yaitu 17,75 ppm dan replikasi 3 yaitu 17,47 ppm dari ketiga nilai IC_{50} kuersetin tersebut termasuk penangkal radikal bebas yang stabil. Perolehan senyawa sebagai penagkal radikal bebas amat stabil jika IC_{50} kurang dari lima puluh PPM (Handayani, dkk., 2020). Kemudian berdasarkan tabel 4.4 didapatkan hasil nilai IC_{50} sampel ekstrak etanol daun Miana (*Coleus atropurpureus* Benth) pada replikasi 1 yaitu 56,40 ppm, replikasi 2 yaitu 52,07 dan replikasi 3 yaitu 62,42.

Jika dibandingkan jumlah IC_{50} ekstrak etanol daun miana (*Coleus atropurpureus* Benth) dan jumlah IC_{50} kuersetin didapatkan, jumlah IC_{50} pembanding kuersetin kian besar nilainya. Disebabkan oleh karena kuersetin merupakan senyawa murni. Suatu senyawa digolongkan sebagai antioksidan sangat kuat jika memiliki jumlah IC_{50} <50 µg/ml, kuat jika jumlah IC_{50} berkisar sekitar 50-100 µg/ml, sedang jika jumlah IC_{50} sekitar 100-150 µg/ml, lemah jika jumlah IC_{50} 250-500 µg/ml, dan tak aktif jika jumlah IC_{50} >500 µg/ml (Handayani, 2020).

KESIMPULAN

Kandungan metabolit sekunder pada ekstrak etanol daun Miana (*Coleus atropurpureus* Benth) yang didapatkan adalah flavonoid, saponin, tanin dan alkaloid. Kadar total metabolit sekunder pada masing-masing senyawa yang diuji berturut-berturut adalah flavonoid 0,2673% b/b, saponin 0.5510% b/b, tanin 0,9152% b/b, dan alkaloid 12,66%, b/b. serta mempunyai nilai IC_{50} 56,96 ppm termasuk kategori antioksidan kuat.

SARAN

Saran dari penelitian ini yaitu diharapkan agar peneliti selanjutnya bisa melakukan pengujian antioksidan dengan metode lain.

DAFTAR PUSTAKA

Afifah Dwi Nur Afifah 2015 Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat Daun Miana (*Coleus Atropurpureus* Benth)

Emelda. 2019. *Farmakognosi Untuk Mahasiswa Kompetensi Keahlian Farmasi*. Pustaka Baru Press : Yogyakarta.

Handayani, dkk. (2020). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Karet Kebo (*Ficus elastica*) Dengan Metode Peredaman Radikal Bebas Dpph (1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazil). *Jurnal Farmasi Galenika (Galenika Journal Of Pharmacy) (E-Journal)*, *6*(1), 141–150.

Hardianti Y 2013 Pengaruh aktivitas Antioksidan Daun Miana dalam Menangkal Radikal Bebas Skripsi, 1(1), 1–60.

Hasibuan, A. S., Edrianto, V., & Purba, N. (2020). Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Umbi Bawang Merah (*Allium cepa* L.) *Have Pharmacological Activity . Ethanol Is A Solvent That Is Able To*. 2(2), 45–49.

Husnul Dkk. 2018 Pengaruh Lama Penyimpanan Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Miana (*Coleus atropurpureus* L. Benth)

Maesaroh, dkk. (2018). Perbandingan Metode Uji Aktivitas Antioksidan DPPH, FRAP Dan FIC Terhadap Asam Askorbat, Asam Galat Dan Kuersetin. 6 (2), 93–100.

Misfadhila, dkk. (2019). Penggunaan Metode DPPH dalam Penentuan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol dan Fraksi Daun Sukun (*Artocarpus altilis*). Jurnal Farmasi Higea. Vol. (11), No. (1) (2019).

Niluh Puspita Dewi. (2020). Uji Kualitatif Dan Kuantitatif Metabolit Sekunder Ekstrak Etanol Daun Awar-Awar *(Ficus septica* Burm. F*)* Dengan Metode Spektrofotometri Uv-Vis. *Jurnal Acta Holish Pharm,* Vol 2(1), 16-24.

Nurhikmah 2020 Uji Aktivitas Antioksidan Formula Minyak Herbal Stifa Pelita Mas Dengan Metode 1,1-Diphenyl-2-Picrylhidrazil (Dpph) Menggunakan Spektrofotometer Uv-Vis

Purwanto, dkk. (2017). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Buah Purnajiwa (*Kopsia arborea* Blume) dengan berbagai Pelarut. 3 (April), 24–32.

Putri, dkk. (2019). Metabolit Sekunder dari *Muntingia calabura* dan Bioaktivitasnya. ALCHEMY. Jurnal Penelitian Kimia. Vol. (15) No. (1) 2019, 57-78

Rizaldy A.Lalu. (2020). Uji Potensi Nefropati Diabetes Ekstrak Daun Sirih Merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) Pada Tikus Putih Jantan (*Rattus novergicus)*

Suriyawati, N. (2018). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 96% Kombinasi Kunyit Putih (*Curcuma zedoaria* Rosc.,) Dan Buah Pare (*Momordica charantia* L.,) Menggunakan Metode Dpph (1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil). Skripsi, 53(9), 1689–1699.

Tandi, J. 2018. Buku Ajar Obat Tradisional, Cetakan Kelima. Stifa Pelita Mas Palu. Hal. 42-59.

Tandi, J., Melinda, B., Purwantari, A., & Widodo, A. (2020). Analisis Kualitatif dan Kuantitatif Metabolit Sekunder Ekstrak Etanol Buah Okra (*Abelmoschus esculentus* L. Moench) dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis. KOVALEN: Jurnal Riset Kimia, 6(1), 2020: 74-80.

Widuri, S. A., & Mediawati, I. (2018). Skrining Fitokimia Dan Uji Aktivitas Antioksidan Beberapa Tumbuhan Obat Di Kabupaten Paser , Kalimantan Timur *Phytochemical Screening And Antioxidant Activity Scrutinizing Of Some Medicinal Plants In Paser Regency* , East Kalimantan. Prosiding Seminar Nasional Lingkungan Lahan Basah, 3(April), 116–120.