

Uji Aktivitas Antioksidan dan Antitirosinase Fraksi *n*-Butanol Daun Sungkai (*Peronema canescens* Jack.) Secara Kualitatif Menggunakan Kromatografi Lapis Tipis

Fadlilaturrahmah^{1*}, Aditya Maulana Perdana Putra², Titin Nor²

¹Program Studi D3 Analisis Farmasi dan Makanan, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lambung Mangkurat, Banjarbaru, Kalimantan Selatan, Indonesia

²Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lambung Mangkurat, Banjarbaru, Kalimantan Selatan, Indonesia

*Email: fadlilaturrahmah@ulm.ac.id

ABSTRAK

Kerusakan oksidatif dalam tubuh manusia dapat disebabkan oleh radikal bebas, sehingga menimbulkan berbagai permasalahan. Daun *P. canescens* memiliki kandungan senyawa fenolik, tanin, alkaloid, steroid, saponin dan flavonoid yang potensial sebagai antioksidan. Tujuan penelitian ini yaitu untuk melakukan uji aktivitas antioksidan dan antitirosinase fraksi *n*-butanol daun sungkai secara kualitatif menggunakan kromatografi lapis tipis. Metode yang digunakan yaitu preparasi sampel dengan pembuatan simplisia yang kemudian diekstraksi secara maserasi menggunakan etanol 96%. Hasil ekstrak kental kemudian difraksinasi bertingkat dengan pelarut *n*-heksan, etil asetat, dan *n*-butanol. Selanjutnya dilakukan skrining fitokimia, uji aktivitas antioksidan, dan antitirosinase secara kualitatif menggunakan kromatografi lapis tipis. Hasil rendemen ekstrak etanol daun *P. canescens* yaitu sebesar 7,28% sedangkan rendemen fraksi yaitu 24,8%. Skrining fitokimia ekstrak etanol *P. canescens* mengandung alkaloid, flavonoid, terpenoid, steroid, tanin, saponin, dan fenol. Kesimpulan yang didapatkan dari penelitian ini yaitu fraksi *n*-butanol daun *P. canescens* berpotensi memiliki aktivitas antioksidan yang ditandai adanya noda kuning pucat setelah penyemprotan dengan reagen DPPH, serta berpotensi memiliki aktivitas antitirosinase secara kualitatif yang ditandai dengan adanya bercak putih pada plat KLT.

Kata Kunci: DPPH, L-DOPA, Asam askorbat, Enzim

ABSTRACT

Oxidative damage in the human body can be caused by free radicals, causing various problems. P. canescens leaves contain phenolic compounds, tannins, alkaloids, steroids, saponins and flavonoids that have potential as antioxidants. The purpose of this study was to test the antioxidant and antityrosinase activity of the n-butanol fraction of sungkai leaves qualitatively using thin layer chromatography. The method used is sample preparation by making simplicia which is then extracted by maceration using 96% ethanol. The viscous extract was then fractionated with n-hexane, ethyl acetate, and n-butanol as solvents. Furthermore, phytochemical screening, antioxidant activity, and antityrosinase tests were carried out qualitatively using thin layer chromatography. The yield of P. canescens leaf ethanol extract was 7.28%, while the fraction yield was 24.8%. Phytochemical screening of P. canescens ethanol extract containing alkaloids, flavonoids, terpenoids, steroids, tannins, saponins, and phenols. The conclusion obtained from this study is that the n-butanol fraction of P. canescens leaves has the potential to have antioxidant activity which is indicated by a pale yellow stain after spraying with DPPH reagent, and has the potential to have qualitative antityrosinase activity which is indicated by the presence of white spots on the TLC plate.

Keywords: DPPH, L-DOPA, Ascorbic Acid, Enzymes

I. PENDAHULUAN

Kerusakan oksidatif dalam tubuh manusia dapat disebabkan oleh radikal bebas, sehingga menimbulkan berbagai permasalahan (Winarsi, 2007). Penyakit yang diakibatkan oleh radikal bebas diantaranya penyakit peradangan, penuaan dini, dan degeneratif (Nurani, 2013). Radikal bebas dapat berasal dari lingkungan luar, seperti zat polutan dan makanan berpengawet (Nurani, 2013). Kerusakan oksidatif yang diakibatkan reaksi oksidasi dapat terjadi setiap saat seperti saat bernapas dan selama proses metabolisme dalam tubuh (Yuslianti, 2018). Hal tersebut dapat diatasi dengan pemberian asupan makanan yang mengandung antioksidan alami yang

berasal dari tumbuhan (Marjoni *et al.*, 2015).

Tumbuhan juga memiliki banyak senyawa yang terkandung yang dapat digunakan untuk menangkal radikal bebas, sehingga tumbuhan yang memiliki khasiat dapat digunakan sebagai bahan baku untuk pembuatan obat-obatan. Salah satu tumbuhan yang dapat dijadikan obat tradisional adalah tumbuhan *Peronema canescens* Jack, dari suku Verbenaceae. *P. canescens* terkenal dengan nama sungkai. Penelitian sebelumnya yang terdahulu pada tanaman sungkai sudah banyak dilakukan pada uji antioksidan, salah satunya uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol *P. canescens* pada penelitian Meyvina (2019) didapatkan hasil IC₅₀ 44,933 ppm. Hasil ini menunjukkan bahwa konsentrasi

44,933 ppm ekstrak etanol daun *P. canescens* dapat menghambat 50% aktivitas radikal bebas DPPH. Manfaat lain dari *P. canescens* sebagai antiplasmodium dan antibakteri serta telah diuji farmakognostik (Suwandi, 2009; Kusriani *et al.*, 2011).

Daun *P. canescens* memiliki kandungan senyawa fenolik, tannin, alkaloid, steroid, saponin dan flavonoid (Kusriani *et al.*, 2015). Flavonoid termasuk senyawa fenolik alam yang potensial sebagai antioksidan. Flavonoid dalam tubuh manusia berfungsi sebagai antioksidan sehingga sangat baik untuk mencegah kanker (Hasbi, 2012). Flavonoid pada tanaman sungkai dapat mengikat radikal bebas dan oksigen aktif lainnya dengan cara menghambat reaksi oksidasi yang terjadi dengan mendonorkan atom hidrogen (Puspitasari *et al.*, 2016; Formagio *et al.*, 2014).

Salah satu sumber radikal bebas yakni sinar ultra violet. Melanin memiliki peran yang sangat penting untuk melindungi kulit terhadap sinar ultra violet (UV). Kulit terlihat berwarna lebih gelap biasanya dikarenakan produksi melanin yang berlebihan (Lin & Fisher, 2007). Cara yang paling banyak digunakan untuk proses mengurangi munculnya bercak gelap muncul pada kulit ialah penghambatan enzim tirosinase (Seo *et al.*, 2007).

Salah satu metode yang digunakan untuk melihat ada atau tidaknya aktivitas antioksidan dan antitirosinase adalah dengan menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT). KLT dapat dipakai sebagai metode untuk mencapai hasil kualitatif, kuantitatif dan preparatif (Putri, 2017). Keuntungan dari metode ini adalah dapat melakukan analisis beberapa sampel secara simultan dengan menggunakan fase gerak dalam jumlah kecil sehingga lebih hemat waktu dan biaya analisis serta lebih ramah lingkungan. Teknik pemisahan dari KLT lebih sederhana dari kromatografi lainnya dan dengan peralatan yang minimal (Wulandari, 2011). Metode KLT dapat digunakan untuk menguji aktivitas antioksidan dan antitirosinase karena KLT merupakan metode paling sederhana yang dapat dilakukan untuk menguji kualitatif aktivitas tertentu pada suatu sampel sebelum dilanjutkan dengan metode yang lebih kompleks.

II. METODE

A. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Farmakognosi-Fitokimia, Laboratorium Kimia Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lambung Mangkurat, Desa Sungkai Kabupaten Banjar. Penelitian ini dilakukan dalam rentang waktu 3 bulan dari bulan Juli hingga September 2020.

B. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah blender philips, bejana maserator, batang pengaduk, kertas saring (*Whatman*) nomor 1, *rotary evaporator*, *waterbath* (Mommert), cawan penguap, corong *Buchner* (Iwaki), tabung reaksi (Pyrex), aluminium foil, lempeng KLT, pipa kapiler, chamber, labu ukur (Pyrex) 5; 10; 25 mL, pH meter, *hot plate*, neraca analitik, *oven*, rak tabung, sendok besi, propipet, pipet ukur (Iwaki), gelas ukur, serta lampu UV 254 dan 366 nm.

Bahan yang digunakan adalah daun *P. canescens* Jack., aluminium foil, etanol 96%, aquades, n-heksana, etil asetat, reagen mayer dan dragendroff (p.a), HCl pekat (teknis), serbuk magnesium (teknis), larutan gelatin 1% (teknis), reagen Liberman-Burchard (p.a), FeCl₃ 1% (teknis), DPPH (*Aldrich*), Metanol p.a., enzim tirosinase, L-DOPA (Sigma, St. Louis, MO, USA), dapar fosfat, OMC (Octyl-p-Methoxycinnamate), asam askorbat (Merck).

C. Pengumpulan dan Pengolahan

Sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah bagian daun dari tanaman *P. canescens* didapatkan dari Desa Sungkai Kalimantan Selatan pada tanggal 6 Januari 2020. Daun tanaman *P. canescens* dikumpulkan, disortasi basah

untuk memisahkan kotoran yang menempel pada daun, membuang bagian daun yang rusak serta menghilangkan bahan asing lainnya. Pengeringan tanaman menggunakan metode sinar matahari dengan ditutupi kain hitam mampu menjaga kadar flavonoid yang terdapat pada daun agar tidak rusak (Utomo *et al.*, 2009). Benda-benda asing yang masih berada pada sampel setelah pengeringan dipisahkan (Kartono, 2008). Daun kering yang sudah didapat kemudian diblender hingga menjadi serbuk.

D. Ekstraksi

Ekstraksi dilakukan dengan cara merendam sebanyak 1000 gram serbuk kasar dengan ukuran ayakan No.25 daun *P. canescens* dan menambahkan pelarut etanol 96% kemudian didiamkan selama 24 jam pada suhu kamar. Ekstraksi dilakukan berulang kali (1 kali maserasi dan 2 kali remaserasi) sambil dilakukan pengadukan untuk mengoptimalkan proses penyarian sehingga metabolit sekunder yang terkandung dalam buhan *P. canescens* dapat terekstraksi secara maksimal (Wikanta *et al.*, 2012). Setelah proses perendaman didapatkan ekstrak cair daun *P. canescens* berwarna hijau. Ekstrak cair ini kemudian disaring dengan kertas saring yang bertujuan untuk memisahkan serbuk sampel atau pengotor yang dapat mengganggu proses selanjutnya. Ekstrak

cair selanjutnya diuapkan menggunakan waterbath dengan suhu 70^o C, kemudian dihitung rendemennya. Rendemen menggunakan satuan persen (%). Rendemen menyatakan presentase banyaknya zat yang didapat dari proses ekstraksi dengan cara membandingkan antara berat ekstrak yang diperoleh dengan berat simplisia awal yang digunakan untuk ekstraksi.

E. Fraksinasi

Sejumlah \pm 200 gram ekstrak etanol daun *P. canescens* yang diperoleh dilakukan fraksinasi cair-cair menggunakan pelarut dengan kepolaran bertingkat yaitu *n*-heksan, etil asetat, dan *n*-butanol. Ekstrak kental disuspensikan dalam aquadest, ekstrak diaduk hingga homogen dan dimasukkan ke dalam corong pisah. Partisi dengan pelarut *n*-heksan dan air (1:1) larutan dikocok hingga tercampur dan didiamkan selama 10-15 menit hingga terdapat dua lapisan (air pada lapisan bawah dan *n*-heksan pada lapisan atas). Kedua lapisan yang terbentuk kemudian dipisahkan. Proses penambahan *n*-heksan pada lapisan bawah (air) yang sudah dipisahkan diulangi hingga didapatkan fraksi *n*-heksan bening. Lapisan atas (*n*-heksan) yang terbentuk selama beberapa kali fraksinasi digabungkan dan disebut sebagai fraksi *n*-

heksan. Fraksi *n*-heksan dipisahkan kemudian fraksi air dilakukan fraksinasi menggunakan pelarut etil asetat dan air (1:1) dengan perlakuan yang sama seperti fraksinasi sebelumnya hingga didapatkan hasil fraksi etil asetat bening. Fraksi etil asetat dipisahkan, kemudian fraksi air dilakukan fraksinasi menggunakan pelarut *n*-butanol dan air (1:1) larutan dikocok hingga tercampur dan dibiarkan hingga terbentuk 2 lapisan.

Proses fraksinasi diulangi hingga didapatkan fraksi *n*-butanol bening. Fraksi *n*-butanol dipisahkan, residu yang diperoleh berupa fraksi air. Fraksi *n*-heksan, etil asetat dan *n*-butanol yang diperoleh diuapkan dengan *vacuum rotary evaporator* pada suhu 50^oC hingga terjadi penyusutan volume. Kemudian dipekatkan dengan *waterbath* sampai diperoleh bobot konstan, selanjutnya dihitung % rendemennya yang dihitung berat ekstrak yang digunakan (Rochmah, 2018).

F. Skrining Fitokimia

Uji alkaloid dilakukan dengan memasukan 2 mL sampel ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 2 mL HCl. Larutan dibagi menjadi 2 tabung reaksi, tabung pertama ditambahkan reagen Dragendroff 3 tetes, dan tabung kedua ditambahkan reagen Mayer 3 tetes. Terbentuknya endapan jingga pada tabung

Mayer dan endapan putih hingga kekuningan pada tabung Dragendroff menunjukkan adanya alkaloid (Simaremare, 2014).

Uji flavonoid dilakukan dengan memanaskan 2 mL sampel, kemudian ditambahkan 2 tetes HCl. Selanjutnya ditambahkan serbuk magnesium secukupnya. Terbentuk larutan berwarna merah menunjukkan adanya flavonoid (Simaremare, 2014).

Uji saponin dilakukan dengan menambahkan 5 mL air panas ke dalam 2 mL sampel, lalu didinginkan, dan dikocok kuat selama 10 detik. Terbentuk buih yang mantap selama tidak kurang 10 menit setinggi 1-10 cm menandakan adanya saponin (Simaremare, 2014).

Uji tanin dilakukan dengan menambahkan 1 mL larutan FeCl₃ ke dalam 1 mL sampel. Terbentuk warna biru tua, biru kehitaman atau hitam kehijauan menunjukkan adanya senyawa tanin (Simaremare, 2014).

Uji fenol dilakukan dengan menambahkan 1 mL aquadest dan 10 tetes FeCl₃ 5% ke dalam sampel. Hasil positif ditandai dengan adanya perubahan warna menjadi hijau, merah, ungu, biru, atau hitam pekat (Wijaya *et al.*, 2014).

Uji terpenoid dilakukan dengan sebanyak 0,1 gram sampel ditambahkan 5 mL etanol. Campuran ditambahkan pereaksi Liebermann Burchard. Hasil

positif ditandai dengan sampel berubah warna membentuk cincin coklat (Harborne, 1984).

G. Analisis Kualitatif Aktivitas Antioksidan Dengan Kromatografi Lapis Tipis

Sampel dibuat konsentrasi 5000 ppm. Sampel kemudian ditotolkan pada plat KLT. Pada plat KLT diberi tanda batas atas dan batas bawah. Pada batas bawah diberikan jarak antara sampel 1 cm dan pada jarak atas 0,5 cm. sampel fraksi *n*-butanol daun *P.canescens* Jack. ditotolkan pada plat KLT menggunakan pipa kapiler. Proses elusi dilakukan dengan cara plat KLT dimasukkan dalam chamber yang telah berisi eluen yakni metanol : kloroform (9:1) dan telah dijenuhkan. Eluen dibiarkan terelusi hingga mencapai tanda batas plat yang telah ditandai sebelumnya. Setelah selesai, plat KLT dikeluarkan dari chamber dan diamati dibawah lampu UV 366 dan 254 nm. Setelah itu, plat KLT disemprotkan dengan larutan DPPH 0,01 %. Bercak pada plat KLT yang memiliki aktivitas antioksidan berubah menjadi warna putih kekuningan dengan latar belakang warna ungu (Mahmuda, 2018).

H. Uji Aktivitas Penghambatan Tirosinase Fraksi n-Butanol Daun *P. Canescens*

Asam askorbat dibuat dengan konsentrasi 4 mM menggunakan pelarut metanol. Sampel ditotolkan pada plat KLT (batas atas 0,5 cm dan batas bawah 1 cm). Plat kemudian dimasukkan kedalam chamber yang telah berisi fase gerak berupa metanol : kloroform (9:1) yang telah dijenuhkan sebelumnya. Plat kemudian dikeluarkan dari chamber jika sudah mencapai batas atas dan keringkan plat pada suhu kamar. Larutan enzim tirosinase dan L-DOPA kemudian disemprotkan kepermukaan plat. Amati plat KLT dengan menggunakan sinar UV, bercak yang memiliki aktivitas penghambatan tirosinase akan berwarna putih (Whangthong *et al.*, 2007).

Sampel dibuat menjadi satu konsentrasi yaitu 5000 ppm lalu ditotolkan pada plat KLT. Plat kemudian dimasukkan kedalam chamber yang telah berisi fase gerak berupa metanol : kloroform (9:1) yang telah dijenuhkan sebelumnya. Plat dikeluarkan dari chamber jika sudah mencapai batas atas dan keringkan plat pada suhu kamar. Larutan enzim tirosinase dan L-DOPA disemprotkan kepermukaan plat. Plat KLT yang telah siap kemudian diamati dengan menggunakan sinar UV, bercak yang memiliki aktivitas penghambatan tirosinase akan berwarna putih (Whangthong *et al.*, 2007).

I. Analisis Data

Bercak pada uji aktivitas antioksidan dan penghambatan tirosinase secara KLT dianalisis. Pada bercak yang telah didapat kemudian difoto, lalu dianalisis. Hasil positif memiliki aktivitas antioksidan ditandai dengan adanya bercak berwarna kuning pada plat KLT. Positif memiliki aktivitas penghambatan tirosinase ditandai dengan adanya bintik berwarna putih kekuningan dan latar belakang kecoklatan-ungu pada plat KLT

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

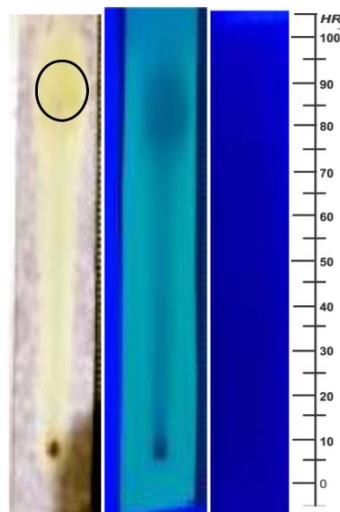
Hasil yang didapat berupa ekstrak kental berwarna hijau tua. Ekstrak kental yang didapat kemudian ditimbang dan dihitung rendemen nya. Hasil rendemen ekstrak etanol daun *P. canescens* dengan bobot tetap 72,88 gr adalah 7,28 %, yang berarti bahwa presentase banyaknya zat yang didapat dari proses ekstraksi yaitu 7,28% atau terdapat 7,28 gram zat yang didapat dari 1000 gram simplisia. Hasil ini lebih tinggi daripada hasil yang didapatkan dalam penelitian daun sungkai asal Kalimantan Timur yang dilakukan oleh Ahmad dan Ibrahim (2015), dimana rendemen ekstrak nya adalah 3,38%.

Tahap selanjutnya yaitu melakukan fraksinasi. Fraksi kental n-butanol yang didapat yaitu sebesar 6,2 g sehingga rendemen dari fraksi yaitu 24,8 %, yang berarti terdapat 24,8 bagian zat dari total

100 bagian. Hasil ini juga lebih tinggi dibandingkan dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan terhadap daun sungkai asal Kalimantan Timur dengan total rendemen fraksi sebesar 3,64% (Ahmad & Ibrahim, 2015).

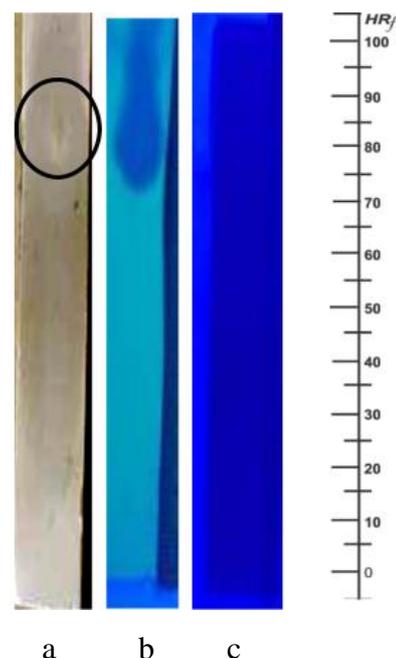
Uji organoleptik atau uji indra merupakan cara pengujian dengan menggunakan indra manusia sebagai alat utama untuk memberikan karakteristik ekstrak daun *P. canescens*. Uji ini juga digunakan untuk menilai mutu suatu ekstrak dan fraksi simplisia. Uji organoleptik meliputi warna, aroma, rasa dan tekstur. Hasil organoleptik menunjukkan bahwa ekstrak etanol dan fraksi n-butanol daun *P. canescens* berwarna hijau kehitaman, hal ini karena daun *P. canescens* memiliki dasar warna hijau. Adapun rasa yang pahit dan aroma khas dari daun ini dapat berasal dari metabolit sekunder yang terdapat didalamnya, dimana dari hasil skrining fitokimianya terdapat tanin yang memiliki kontribusi memberikan rasa sepat pahit terhadap suatu tumbuhan. Tekstur ekstrak dan fraksi yang kental menandakan bahwa pelarut yang digunakan telah menyari senyawa-senyawa didalam daun *P. canescens*, serta setelahnya dilakukan proses oven guna menguapkan pelarut sehingga menghasilkan ekstrak dan fraksi yang kental.

Skrining fitokimia merupakan tahap pendahuluan dalam suatu penelitian fitokimia yang bertujuan untuk memberikan gambaran tentang golongan senyawa yang terkandung dalam tumbuhan yang sedang diteliti. Metode skrining fitokimia dilakukan dengan melihat reaksi pengujian warna dengan menggunakan suatu pereaksi warna. Hal penting yang berperan penting dalam skrining fitokimia adalah pemilihan pelarut dan metode ekstraksi (Kristianti *et al.*, 2008). Hasil skrining fitokimia pada penelitian ini memberikan hasil positif pada alkaloid, flavonoid, saponin, steroid, fenol dan tanin.



Gambar 1. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan dengan KLT, (a) Penampakan noda setelah penyemprotan reagen DPPH, (b) Penampakan noda dengan lampu UV 254 nm, (c) Penampakan noda dengan lampu UV 366 nm, nilai Rf 0,92

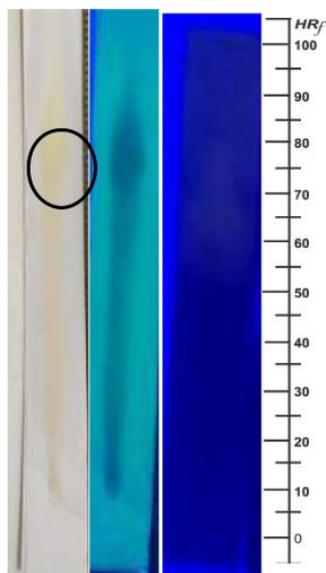
Berdasarkan Gambar 1 terlihat bahwa pada bagian plat yang terdapat spot hasil pemisahan menggunakan KLT terjadi pemudaran warna ungu larutan DPPH. Hal ini terjadi karena adanya aktivitas antioksidan. Antioksidan yang terdapat pada sampel fraksi *n*-butanol daun *P.canescens* Jack mampu bereaksi dengan radikal bebas sehingga menyebabkan radikal tersebut berubah menjadi bentuk tereduksinya (DPPH-H) dan perubahan itulah yang menyebabkan terjadinya pemudaran warna ungu. Larutan DPPH radikal berwarna ungu, sedangkan DPPH tereduksi berwarna ungu pudar dan lama kelamaan menjadi kuning atau tidak berwarna. Semakin kuat aktivitas antioksidan suatu senyawa maka semakin pudar warna ungu yang dihasilkan (Prayoga, 2013). Aktivitas antioksidan daun *P. canescens* secara kuantitatif telah dilakukan oleh Gholivand dkk (2009), dimana tanaman *P. canescens* diekstraksi dengan pelarut metanol dan diuji aktivitas antioksidannya menggunakan metode DPPH. Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa ekstrak metanol tanaman *P. canescens* memiliki aktivitas antioksidan sebesar $49.5 \pm 1.21 \text{ mg/mL}$.



Gambar 2. Profil KLT Penghambatan Tirosinase Asam Askorbat (a) Penampakan noda setelah penyemprotan larutan tirosinase dan L-DOPA, (b) Penampakan noda dengan lampu UV 254 nm, (c) Penampakan noda dengan lampu UV 366 nm, nilai Rf 0,84

Sensitivitas, stabilitas dan biaya merupakan pertimbangan utama dari kondisi eksperimental yang optimal untuk pengembangan KLT berbasis tirosinase. Berdasarkan Gambar 2, dapat disimpulkan bahwa asam askorbat memiliki penghambatan tirosinase yang ditunjukkan oleh adanya bercak berwarna putih. Bercak ini terjadi karena adanya interaksi dengan ion logam dari enzim dalam menurunkan dopakuinon dan menghalangi oksidasi dari bentuk dihidrosiindol 2-asam karboksilat (Handayani *et al.*, 2015).

Deteksi penghambatan tirosinase fraksi *n*-butanol *P. canescens* Jack dilakukan dengan menyemprotkan larutan enzim tirosinase dan L-DOPA ke permukaan plat.



Gambar 3. Profil KLT Penghambatan Tirosinase Fraksi *n*-butanol daun *P. canescens* Jack, (a) Penampakan noda setelah penyemprotan larutan enzim tirosinase dan L-DOPA; (b) Penampakan noda dengan lampu UV 254 nm; (c) Penampakan noda dengan lampu UV 366 nm; nilai R_f 0,77

Berdasarkan Gambar 3, dapat disimpulkan bahwa fraksi *n*-butanol *P. canescens* Jack memiliki aktivitas penghambatan tirosinase secara kualitatif, terlihat dari bercak putih yang muncul pada plat. Menurut Hsu *et al* (2018), penggunaan L-DOPA menunjukkan bintik gelap setelah reaksi 10 menit dengan tirosinase (2 unit) dibandingkan dengan penggunaan L-tirosin dengan jumlah yang

bervariasi (20 sampai 60 nmol), yang menunjukkan bahwa L-DOPA lebih disukai daripada L-tirosin untuk pengamatan dengan mata tanpa alat bantu. ImageJ, perangkat lunak analisis gambar, digunakan untuk mengukur setiap titik gelap pada KLT berbasis tirosinase. Kelompok L-DOPA, L-tyrosin tidak terlalu menunjukkan latar belakang yang gelap pada jumlah atau konsentrasi yang sama. Secara keseluruhan, L-DOPA adalah substrat yang lebih kompeten daripada L-tirosin untuk pengujian tirosinase untuk menunjukkan bercak melanin yang jelas pada pelat KLT (Hsu *et al.*, 2018). Oleh karena itu, L-DOPA digunakan dalam penelitian ini.

Penelitian sebelumnya telah membuktikan bahwa dari lima fraksi sampel (F1-F5) yang diperoleh berdasarkan profil KLT, F1 dan F2 tidak memiliki aktivitas penghambatan tirosinase hanya ketika diamati tidak terdapat bercak putih terang pada plat KLT nya. Namun F3 hingga F5 memberikan efek penghambatan pada tirosinase karena memberikan penampakan bercak putih terang. Untuk membuktikan hal ini, peneliti memisahkan dan mengidentifikasi zat aktif utama dalam fraksi sampel yang diuji (F1-F5) dipisahkan dengan KLT sebelum uji skrining inhibitor tirosinase. Hasil percobaan menegaskan lagi bahwa baik

F1 dan F2 sebenarnya tidak memiliki potensi penghambat tirosinase. Selain itu, zona hambat bintik-bintik tertentu pada KLT menggambarkan lebih dari satu senyawa aktif di F4 dan F5. Hasil ini menyiratkan bahwa KLT berbasis tirosinase memungkinkan peneliti untuk mengidentifikasi senyawa potensial selama evaluasi bioaktivitas (Hsu *et al.*, 2018). Adapun hasil penelitian secara kuantitatif terhadap ekstrak etanol daun *A. microcarpus* menunjukkan bahwa tumbuhan ini memiliki persen penghambatan tirosinase sebesar 29.9 ± 0.14 . Hasil ini lebih besar dibandingkan ekstrak air dan ekstrak metanol nya. (Di Petrillo *et al.*, 2016).

IV. KESIMPULAN

Fraksi *n*-butanol daun *P. canscens* berpotensi memiliki aktivitas antioksidan berdasarkan pengujian secara kualitatif dengan metode KLT ditandai adanya noda kuning pucat setelah penyemprotan dengan reagen DPPH. Fraksi *n*-butanol daun *P. canscens* berpotensi memiliki aktivitas penghambatan tirosinase secara kualitatif menggunakan metode KLT yang ditandai dengan adanya bercak putih pada plat.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Program Dosen Wajib Meneliti

Universitas Lambung Mangkurat yang sudah membiayai penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Capillas, C. R. & L. M. L. Nollet. (2015). *Flow Injection Analysis of Food Additives*. CRC Press, Francis.
- Formagio, A. S. N., C. R. F. Volobuff., M. Santiago., C. A. L., Cardoso., M. D. C., Vieira & Z. V. Pereira. (2014). Evaluatoin of Antioxidant Activity, Total Flavonoids, Tannins and Phenolic Compounds in *Psychotria Left Extract*. *Antioxidants*. 3: 745-757.
- Gholivand MB, Rahimi-Nasrabadi M, Batooli H, Ebrahimabadi AH. (2010). Chemical composition and antioxidant activities of the essential oil and methanol extracts of *Psammogeton canescens*. *Food and Chemical Toxicology : an International Journal Published for the British Industrial Biological Research Association*. 2010 Jan;48(1):24-28. DOI: 10.1016/j.fct.2009.09.007.
- Handayani, F., Rissyelly, & Katrin. (2015). Uji Efek Pemutih Ekstrak Etanol dan Fraksi dari Kulit Batang Mentangau (*Calophyllum pulcherrimum* Wall.) dengan Metode Penghambatan Aktivitas Tirosinase. *FFarmasi UI*. 1-20.
- Handayani, V., A. R. Ahmad, & M. Sudir. (2014). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Bunga dan Daun Patikala (*Etilingera elatior* (Jack) R. M. Sm) Menggunakan Metode DPPH. *OPharm Sci Res*.01: 86-93.
- Hasbi, S. (2012). *Uji Sensitivitas Perasan Daun Alpukat (P. americana Miller) terhadap Pseudomonas sp Metode Invitro*. Akademi Analisa Kesehatan. Banda Aceh.
- Ibrahim, A., M., Arifudin, P.W., Cahyo, W., Widayat, & M., Bone. (2019). Isolation and Characterization

- Endophytic Fungal Isolate From *Peronema canescens* Jack Leaf And *Coptosapelta tomentosa* Val. K. Heyne Root. *Journal of Topical Pharmacy and Chemistry*. 4: 215-225.
- Kartono. (2008). *Pengelolaan Pasca Panen Tanaman Obat*. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat Tradisional (B2P2TO-OT), Jakarta.
- Kusriani, R. R., A. Nawawi., & T. Turahman. (2011). Uji Aktivitas Ekstrak dan Fraksi Kulit Batang dan Daun Sungkai (*P. Canescens Jack*) Terhadap *Staphylococcus Aureus* Atcc 25923 dan *Escherichia Coli* ATCC 25922. *Jurnal Farmasi Galenika Volume. 02* ISSN : 2406-9299.
- Linn, J. Y & D. E. Fisher. (2007). Melanocyte Biology and Skin Pigmentation. *Review: Nature*. 4: 843-850.
- Marjoni, M. R., Afrinaldi, & A. D. Novita.(2015) . Kandungan Total Fenol dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Air Daun Kersen (*Muntingia calabura L.*).*Jurnal Kedokteran Yarsi*.023: 187-196.
- Meyvina, D. S. (2019). *Penetapan Kadar Flavonoid Total Dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Sungkai (Peronema Canescens Jack) Asal Kalimantan Selatan*. Skripsi Fakultas Matematika dan Pengetahuan Alam, Universitas Lambung Mangkurat, Banjarbaru.
- Nurani, L. H. (2013). Isolasi dan Uji Penangkapan Radikal Bebas DPPH oleh Isolat-1, Fraksi Etil Asetat dan Ekstrak Etanol Akar Pasak Bumi (*Eurycoma longifolia Jack.*). *Jurnal Ilmiah Kefarmasian*. 3: 95-104.
- Puspitasari, M. L., T. V. Wulansari., T. R. Widyaningsih., J. M. Maligan., & N. I. P. Nugrahini. (2016). Aktivitas Antioksidan Suplemen Herbal Daun Sirsak (*A. muricata L.*) dan Kulit Manggis (*G. mangostana L.*) Kajian Pustaka. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. 4(1): 283-290.
- Rochmah, C. D. (2018). Aktivitas Gel Fraksi *n*-Butanol Umbi Tawas Ut (*Ampelocissus Rubiginosa* Lauterb.) Terhadap Infiltrasi Sel Radang, Pembentukan Kelenjar Sebacea, dan Kolagen Pada Luka Bakar Tikus. *Skripsi*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lambung Mangkurat. Banjarbaru.
- Seo, J.H., Lee, Y.M., Lee, J. S., Kang, H.C., & Kim, H.D. (2007). Efficacy and Tolerability of the Ketogenic Diet According to Lipid: Nonlipid Ratios--Comparison of 3:1 With 4:1 Diet. *Epilepsia*. 48: 801-805.
- Simaremare. E. S. (2014). Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Gatal (*Laportea decumana* (Roxb.) Wedd). *Pharmacy*. 11 : 98-107.
- Utomo, A.D., W.S. Rahayu., B.A. Dhiani. 2009. Pengaruh Beberapa Metode Pengeringan Terhadap Kadar Flavonoid Total Herba Sambiloto (*A. paniculata*). *PHARMACY*.
- Wijaya, D. P., J. E. Paendong, & J. Abidjulu. (2014). Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan dari Daun Nasi (*Phrynium capitatum*) dengan Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil).*OJURNAL MIPA UNSRAT ONLINE*.03: 11-15.
- Winarsi, H.(2007) .*Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Kanisius, Jakarta.
- Yuslianti, E. R. (2018). *Radikal Bebas dan Antioksidan*. Deepublish, Yogyakarta.