

Penentuan Kadar Flavonoid Total dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Kajajahi (*Leucosyke capitellata* Wedd.)

*Irvan Ipandi¹, Liling Triyasmono¹, Budi Prayitno²

¹ Program Studi Farmasi FMIPA Universitas Lambung Mangkurat Banjarmasin

² Program Studi Biologi STKIP PGRI Banjarmasin

*Email : irvani623@gmail.com

ABSTRAK

Tumbuhan kajajahi (*Leucosyke capitellata* Wedd.) merupakan tumbuhan yang berkhasiat sebagai obat tradisional seperti penurun panas dan anti diare. Tumbuhan kajajahi telah diketahui mengandung senyawa flavonoid dengan sifat sebagai penangkal radikal bebas. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan kadar flavonoid total dan aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol daun kajajahi. Penelitian ini bersifat eksperimental. Sampel yang digunakan adalah daun kajajahi yang berasal dari desa Hulu Banyu Kecamatan Loksado Kabupaten Hulu sungai Selatan. Penentuan kadar flavonoid total dilakukan secara spektrofotometri didasarkan pada kemampuan flavonoid membentuk kompleks dengan $AlCl_3$ sedangkan Aktivitas antioksidan ditentukan menggunakan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil). Hasil penelitian diperoleh kadar flavonoid total ekstrak etanol daun kajajahi sebesar $6,14 \pm 0,193$ mg/g kuersetin dan aktivitas antioksidan sebesar IC_{50} 455,570 ppm. Sehingga dapat digolongkan sebagai antioksidan lemah.

Kata kunci : *Leucosyke capitellata* Wedd, Antioksidan, DPPH, Flavonoid Total

ABSTRACT

Kajajahi Plant (Leucosyke capitellata Wedd.) a potent plant that may act as a traditional medicine such as antifever and anti-diarrhea. Kajajahi plant known contain flavonoid compounds that have properties as free-radical scavengers. The Purpose of this study was to determine the total flavonoid content and antioxidant activity of kajajahi leaves ethanol extract. The design of this research is experimental. The sample were kajajahi leaves from Hulu Banyu, Loksado, Hulu sungai Selatan. The determination of total flavonoids done by spectrophotometry based on the ability of flavonoids to form complexes with $AlCl_3$ while The antioxidant activity determined using the DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) method. Results of this study showed the total flavonoid content of kajajahi leaves ethanol extract was 6.14 ± 0.193 mg/g of quercetin and antioxidant of IC_{50} 455.570 ppm. Which, may be classified as weak antioxidant.

Keywords: *Leucosyke capitellata* Wedd, Antioxidant, DPPH, Total Flavonoids

I. PENDAHULUAN

Bahan obat yang berasal dari alam secara Obat modern (obat sintetis) saat ini banyak digunakan oleh masyarakat untuk menjaga kesehatan dan mengobati penyakit tertentu. Obat modern mempunyai kekuatan ilmiah karena sudah melalui uji klinis yang dilakukan bertahun-tahun. Meskipun begitu, obat modern mempunyai kekurangan yaitu efek samping besar. Oleh karena itu banyak masyarakat yang beralih ke pengobatan tradisional yang dinilai memiliki efek samping yang lebih kecil dan dapat dimanfaatkan sebagai tanaman obat keluarga.

Salah satu tumbuhan yang berkhasiat sebagai obat yaitu daun Kajajahi. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Ling (2008) dan Rahmi (2013) diketahui bahwa daun kajajahi mengandung senyawa flavonoid tanin dan saponin. Tumbuhan kajajahi oleh masyarakat setempat digunakan untuk mengatasi keputihan, penawar racun, penurun panas (anti piretik) dan antidiare. Flavonoid merupakan senyawa golongan fenol yang tersebar di alam dan memiliki sifat sebagai penangkal radikal bebas (Pourmourad, 2006). Radikal bebas sangat berbahaya bagi tubuh manusia karena dapat merusak komponen-komponen sel tubuh seperti lipid, protein dan DNA (Oktarini, 2014).

Antioksidan berfungsi untuk menetralkan radikal bebas sehingga diharapkan dengan pemberian antioksidan tersebut dapat mencegah terjadinya kerusakan tubuh dan timbulnya penyakit degeneratif. Pemilihan antioksidan alami menjadi perhatian masyarakat karena telah ditemukannya efek samping pada antioksidan sintetis yang bersifat karsinogenik jika digunakan dalam jangka waktu yang lama dan dalam jumlah yang berlebihan (Zuhra dkk, 2008). Oleh karena itu senyawa antioksidan alami baru harus terus dicari atau setidaknya diperbaharui agar bisa menjadi penangkal radikal bebas yang lebih aman bagi tubuh manusia, sehingga untuk memenuhi hal tersebut pencarian senyawa antioksidan alami diarahkan pada sumber daya alam.

II. BAHAN DAN METODE

A. Bahan

Bahan yang digunakan adalah daun kajajahi, aquades, etanol teknis 70%, etanol p.a, kuersetin, AlCl_3 2 %, HCl pekat, serbuk Mg, pereaksi DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazin), aluminium foil, plat KLT silika gel 60 GF 254, *n*-butanol, asam asetat, air, dan kertas saring.

B. Pembuatan Ekstrak

Serbuk kasar daun Kajajahi ditimbang sebanyak 480 g. Serbuk kasar daun kajajahi yang telah ditimbang

dimasukkan ke dalam bejana maserasi. Pelarut etanol 70% ditambahkan sambil diaduk hingga seluruh serbuk kasar terbasahi merata dengan pelarut. Pelarut ditambahkan dengan perbandingan 1:15. Ekstraksi dilakukan selama 3x24 jam dengan pengadukan selama 1 jam menggunakan *magnetic stirrer*. Ekstrak disaring hingga diperoleh filtrat. Filtrat yang telah diperoleh dimasukkan dalam *rotary evaporator* pada suhu 50°C sehingga didapat ekstrak kental. Ekstrak kental diuapkan diatas *waterbath* sampai diperoleh ekstrak kering dengan bobot tetap (BPOM RI, 2011).

C. Identifikasi Flavonoid

Identifikasi flavonoid dilakukan reaksi pembentukan warna dengan sebuk Mg (Baud *et a*, 2014). dan uji kromatografi lapis tipis dilakukan menggunakan fase diam silika 60 GF₂₅₄ dan fase gerak *n*-butanol: asam asetat: air perbandingan 4:1:5 dengan pembanding kuersetin (Marliana, 2007).

D. Uji Kualitatif Antioksidan

Uji kualitatif antioksidan dilakukan dengan teknik kromatografi lapis tipis menggunakan fase diam silika 60 GF₂₅₄ dan fase gerak *n*-butanol: asam asetat: air perbandingan 4:1:5, kemudian hasil disemprot menggunakan pereaksi semprot DPPH 0,4 mM (Utomo *et al*, 2011).

E. Penentuan Kadar Flavonoid Total

1. Penentuan panjang gelombang maksimum kuersetin

Panjang gelombang maksimum ditentukan dengan cara membuat kuersetin 60 ppm kemudian sebanyak 1 mL larutan kuersetin 60 ppm tersebut direaksikan dengan 1 mL AlCl₃ 2% di dalam tabung reaksi. Kemudian ditambahkan 8 mL asam asetat 5% ke dalam larutan dan dilakukan pembacaan pada rentang panjang gelombang 400-500 nm.

2. Penentuan *operating time* kuersetin

Penentuan *operating time* dilakukan dengan mengambil sebanyak 1 mL larutan kuersetin 60 ppm dimasukkan dalam tabung reaksi, lalu direaksikan dengan 1 mL AlCl₃ 2%, dan ditambahkan 8 mL asam asetat 5% ke dalam larutan. Larutan diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum yang telah diperoleh dengan interval waktu 2 menit sampai diperoleh absorbansi yang stabil.

3. Penentuan kurva baku kuersetin

Larutan baku dibuat dengan cara menimbang kuersetin secara seksama 10,0 mg pada neraca analitik, kuersetin kemudian dilarutkan dengan etanol *add* 10 mL sehingga diperoleh konsentrasi 1000 ppm. Larutan baku 1000 ppm kuersetin dibuat dengan variasi konsentrasi 50, 60, 70, 80, 90 dan 100 ppm. Sebanyak 1 mL larutan dari berbagai konsentrasi direaksikan dengan 1 mL AlCl₃ 2%,

ditambahkan 8 mL asam asetat 5% ke dalam larutan, kemudian didiamkan selama *operating time*. Kurva standar diperoleh dari hubungan antara konsentrasi kuarsetin (mg/L) dengan absorbansi (Pratiwi *et al.*, 2010).

F. Penentuan Aktivitas Antioksidan

1. Penentuan panjang gelombang maksimum DPPH

Sebanyak 1,0 mL larutan DPPH 0,4 mM ditambahkan dengan 4,0 mL etanol p.a. kemudian didiamkan selama 30 menit ditempat gelap, absorbansi diukur dengan Spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 500-600 nm (Molyneux, 2004).

2. Penentuan *operating time* DPPH

Penentuan *operating time* dilakukan dengan cara 1,0 mL larutan DPPH 0,4 mM ditambah dengan larutan uji 6 ppm sebanyak 4,0 mL. Larutan tersebut diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum yang telah diperoleh dengan interval pada waktu 2 menit sampai diperoleh absorbansi yang stabil (Rastuti & Purwati, 2012).

3. Penentuan aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun kajajahi

Ekstrak kental daun kajajahi sebanyak 10,0 mg dilarutkan dalam etanol p.a 10 mL sehingga diperoleh konsentrasi 1000 ppm, dan kemudian dibuat seri kadar dengan konsentrasi 100 ppm, 200 ppm,

300 ppm, 500 ppm dan 600 ppm. Masing-masing dimasukkan dalam tabung reaksi selanjutnya masing-masing 4,0 mL larutan uji ditambahkan dengan 1,0 mL larutan DPPH 0,4 mM. Campuran didiamkan selama waktu *operating time* yang diperoleh dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum.

Perhitungan potensi antioksidan dengan pereaksi DPPH dengan menghitung IC₅₀ untuk masing-masing sampel dengan menggunakan rumus persamaan garis regresi linier yang diperoleh dari grafik hubungan antara konsentrasi dengan % peredaman DPPH ekstrak etanol. Besarnya % peredaman DPPH dihitung dengan rumus :

$$\% \text{ peredaman DPPH} = \frac{[\text{Absorban kontrol} - \text{Absorban sampel}]}{\text{Absorban kontrol}} \times 100 \%$$

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi dilakukan untuk menarik komponen kimia yang terdapat dalam suatu bahan. Proses ekstraksi yang dilakukan menggunakan metode maserasi. Ekstrak kental yang diperoleh berwarna hijau tua dengan persen rendemen sebesar 5,304 %.

Identifikasi flavonoid dengan menggunakan serbuk mg, menunjukkan hasil positif dengan terbentuknya warna jingga dan uji KLT menunjukkan Nilai R_f yang yang dihasilkan sebesar 0,938 untuk

ekstrak dan 0,95 untuk kuersetin sebagai pembanding. Hasil Rf yang hampir sama menandakan bahwa antara ekstrak dan pembanding memiliki karakteristik yang sama yaitu kepolarannya (Srivastava, 2010).

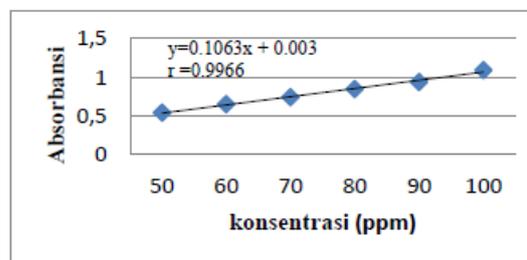
Uji kualitatif antioksidan menggunakan KLT yaitu terbentuk noda berwarna kuning dengan latar ungu. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun kajajahi mengandung senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan (Siska & Astuti, 2011). Menurut Molyneux (2004) adanya aktivitas antioksidan disebabkan karena senyawa yang terdapat pada tumbuhan akan melepaskan atom H yang merupakan salah satu radikal bebas dan kemudian akan berikatan dengan radikal DPPH membentuk senyawa baru yaitu difenil pikrilhidrazin yang stabil.

Penentuan flavonoid total dari ekstrak etanol daun kajajahi dilakukan dengan prinsip pengukuran berdasarkan pembentukan warna dengan pereaksi $AlCl_3$. Kuersetin digunakan sebagai pembanding karena kuersetin merupakan flavonoid golongan flavonol yang mempunyai gugus keto pada C-4 dan memiliki gugus hidroksi pada atom C-3 atau C-5 sehingga dapat membentuk kompleks warna dengan $AlCl_3$ (Desmianty, 2009). Penambahan asam asetat agar pada C-4 keto dan 3 atau 5 – OH tetap stabil. Sebelum dilakukan

penetapan kadar flavonoid total, terlebih dahulu ditentukan panjang gelombang maksimum dan *operating time* yang akan digunakan.

Panjang gelombang maksimum yang diperoleh adalah 415 nm. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Das *et al* (2013) yang menentukan flavonoid total dengan menggunakan penambahan $AlCl_3$ yaitu 415 nm dan *Operating time* yang diperoleh adalah 22 menit untuk waktu inkubasi. Hasil ini memiliki selisih 1 menit dengan *operating time* yang didapat oleh Muhtadi *et al* (2014) yang menentukan flavonoid total dengan menggunakan penambahan $AlCl_3$ yaitu 23 menit.

Penentuan kurva baku kuersetin dilakukan dengan membuat 6 larutan seri kadar yang dibaca absorbansinya pada panjang gelombang maksimum 415 nm dan dengan waktu inkubasi selama 22 menit. Hasil penentuan kurva baku kuersetin dapat dilihat gambar berikut.



Gambar 1. Persamaan kurva baku kuersetin

Penetapan kadar flavonoid total dilakukan dengan standar eksternal yaitu

memasukan nilai absorbansi dari sampel ekstrak etanol daun kajajahi ke dalam persamaan kurva baku kuersetin. Hasil yang diperoleh dapat dilihat pada tabel berikut.

Tabel I. Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol Daun Kajajahi

Sampel	Abs Sampel	\bar{x} Abso sampel \pm SD	RSD (%)	Flavonoid Total (mg/g kuersetin)	\bar{x} flavonoid total (mg/g kuersetin) \pm SD
Ekstrak etanol daun kajajahi	0,650	0,652 \pm 0,002	0,314	6,118 6,165 6,137	6,14 \pm 0,193

Penentuan nilai aktivitas antioksidan pada penelitian ini menggunakan metode DPPH. Metode uji aktivitas antioksidan dengan DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) dipilih karena metode ini adalah metode sederhana, mudah, cepat dan peka serta hanya memerlukan sedikit sampel untuk mengetahui aktivitas antioksidan dari senyawa bahan alam (Koleva *et al*, 2002). Sebelum dilakukan pengujian terhadap ekstrak, terlebih dahulu ditentukan panjang gelombang maksimum dan *operating time* yang akan digunakan.

Hasil penentuan panjang gelombang maksimum dalam penelitian ini sesuai dengan literatur yang disebutkan oleh Molyneux (2004) dimana panjang gelombang maksimum DPPH yaitu 518 nm dan Hasil penentuan *operating time* adalah 10 menit untuk waktu inkubasi. Hasil penentuan *operating time* dalam penelitian ini sesuai dengan literatur yang

disebutkan (Lachman *et al*, 2008) dimana *operating time* DPPH yaitu 10 menit. Hasil uji aktivitas antioksidan vitamin C dan ekstrak etanol daun kajajahi dapat dilihat pada tabel berikut.

Tabel II. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Kajajahi

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Persen inhibisi	Persamaan linear	IC ₅₀ (ppm)
Vit C	1	21,8	Y= 10.1025	3,619 (Sangat Aktif)
	2	35,81	x - 12.7025	
	3	41,68	r= 0.99372	
	5	60,6		
	6	75,36		
	Ekstrak etanol daun kajajahi	100	9,14	
	200	21,7	r= 0,9991	
	300	32,97		
	500	56,20		
	600	65,13		

Flavonoid merupakan salah satu metabolit sekunder yang memiliki aktivitas antioksidan (Chairul *et al*, 2003). Kemampuan menghambat radikal bebas DPPH ekstrak etanol daun kajajahi berkaitan dengan senyawa kimia yang terkandung didalamnya yaitu flavonoid. Flavonoid memiliki kemampuan sebagai antioksidan karena mampu mendonasikan atom H dari gugus hidroksi kepada senyawa radikal bebas.

IV. KESIMPULAN

Dari hasil penelitian dapat diambil suatu kesimpulan bahwa :

1. Ekstrak etanol daun kajajahi memiliki kandungan flavonoid total yaitu sebesar 6,14 \pm 0,193 mg/g kuersetin.
2. Nilai IC₅₀ ekstrak etanol daun kajajahi memiliki aktivitas sebagai antioksidan yaitu sebesar 455,570 ppm, yang

termasuk dalam golongan antioksidan lemah.

DAFTAR PUSTAKA

- Baud, G.S., M.S. Sangi & H.S.J. Koleangan. 2014. Analisis Senyawa Metabolit Sekunder dan Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Batang Tanaman Patah Tulang (*Euphorbia tirucalli* L.) dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). *14* (2) : 106-110.
- BPOM RI. 2011. *Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor Hk.03.1.23.06.11.5629*, Jakarta.
- Chairul, S. M., M. Sumarny & Chairul. 2003. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Air Daun Tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) secara *in vitro*. *Majalah Farmasi Indonesia*. *14* (4): 208-215.
- Das, A., A. Mukherjee, & P. Dhar. 2013. Characterization of Antioxidants and Antioxidative Properties of Various Unifloral Procured from West Bengal, India. *IOSR Journal of Environmental Science, Toxicology and Food Tehcnology*. *7*: 56-63.
- Desmiaty, Y., J. Ratnawati, & P. Andini. 2009. *Penentuan Jumlah Flavonoid Total Ekstrak Etanol Daun Buah Merah (Pandanus conoideus Lamk.) Secara Kolorimetri Komplementer*. Dipresentasikan Pada Seminar Nasional POKJANAS TOI XXXVI 13 & 14 Mei 2009, Universitas Sanata Dharma, Yogyakarta.
- Koleva I. I., Van Beek T A, Linssen J P H, Groot A De, Evstatieva L N. 2002. Screening Of Plant Extracts For Antioxidant Activity: A Comparative Study On Three Testing Methods. *Phytochemical Analysis*. *13*: 8-17.
- Lachman, J., M. Šulc & O. Pavlíková, 2006. Polyphenol content and antiradical activity in different apple varieties. *Hort. Science (Prague)*. *3*: 95-102.
- Ling, L. 2008. *Evaluation of Anti-hiperglicaemic Effect of Leucosyke capitellata Leaf in Normal and Streptozotocin - Induced Diabetic Rats*. Thesis. Program Pasca Sarjana. Universiti Malaysia Sabah, Malaysia.
- Marliana, S.D., V. Suryanti & Suyono. 2005. Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechium edule* Jacq. Swartz.) dalam Ekstrak Etanol. *Biofarmasi*. *3* (1): 26-31.
- Molyneux, R. 2004. The Use of Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. *Songklanakarinn Journal of Sciences*. *2*: 211-219.
- Muhtadi, Anggita L.H, A. Suhendi, Tanti A & Haryoto. 2014. Pengujian Daya Antioksidan Dari Beberapa Ekstrak Kulit Buah Asli Indonesia Dengan Metode Ftc. *Simposium Nasional Rapi Xiii-2014 ft Ums*. 50-56.
- Oktarini, N.W, A.C. Dewi, N.M. puspawati, I.M.D. Swantara, L.A.R.A. Asih & W.S. Rita. 2014. Aktivitas Antioksidan Senyawa Flavonoid Ekstrak Etanol Biji Terong Belanda (*Solanum betaceum, Syn*) Dalam Menghambat Reaksi Peroksidasi Lemak Pada Plasma Darah Tikus Wistar. *Cakra Kimia (Indonesian E-Journal of Applied Chemistry)* *2* : 7-16.
- Pratimasari, D. 2009. Uji Aktifitas Penangkal Radikal Bebas Buah Carica Papaya L Dengan Metode DPPH Dan Penetapan Kadar Fenolik Serta Flavonoid Totalnya. *Skripsi*. Fakultas Farmasi

- Universitas Muhammadiyah
Surakarta.
- Pourmourad, F., S.J Hosseinimehr & N. Shahabimajd. 2008. Antioxidant Activity, Phenol And Flavonoid Contents Of Some Selected Iranian Medicinal Plants. *African journal of Biotechnology* 5 : 43-49.
- Rahmi, K. I., Y. B. Paradina., & H. Izma. 2013. *Identifikasi Senyawa Fitokimia dan Kajian Farmakognostik Tanaman Kajajahi Asal Loksado Kalimantan Selatan*. PKM-Penelitian Universitas Lambung Mangkurat, Banjarbaru.
- Srivastava, M. 2010. *High-Performance Thin-Layer Chromatography (HPTLC)*. Springer Science & Business Media, New York.
- Siska, K. R., & M. D. Astuti. 2011. Isolasi senyawa antioksidan dari kulit batang tumbuhan binjai (*Mangifera caesia*). *Sains dan Terapan Kimia*. 5 (1) : 8-13.
- Utomo, A. B., A. Suprijono, A. Risdianto. 2011. Uji Aktivitas Antioksidan Kombinasi Ekstrak Sarang Semut (*Myrmecodia pendans*) & Ekstrak Teh Hitam (*Camellia sinensis* O.K.var.assamica (mast.)) Dengan Metode DPPH (1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil). *STIF Yayasan Farmasi Semarang*. 1 (1) :1-9.
- Zuhran, C.T., J.B. Taringan & H.Sihotang. 2008. Aktivitas Antioksidan Senyawa Flavonoid Dari Daun Katuk (*Sauropus androgynus* (L) Merr.) *Jurnal Biologi Sumatera*. 1 : 1907-5537.