

Aktivitas Antioksidan Daun Iler *Plectranthus scutellarioides* (L.) R.Br.

M.W. Moelyono*, Anna Uswatun Hasanah Rochjana, Ajeng Diantini, Ida Musfiroh, Sri Adi Sumiwi, Yoppi Iskandar, Yasmiwar Susilawati

ABSTRACT : Antioxidants are the compounds capable to inhibit free radical reactions in the human body. This research was aimed to identify the antioxidant potency of ethanolic extract of *Plectranthus scutellarioides* leaves *in vitro* by using spectrophotometric methods with DPPH (1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl) using vitamin C as reference. Concentrations of samples used were 75, 100, 115, 125 and 135 ppm. The antioxidant activity was measured by visible spectrophotometry at three wavelengths of 498, 518 and 538 nm. The result showed that the *n*-hexane fraction gave the highest antioxidant activity with IC_{50} of 52.5 ppm, 15 times lower than that of vitamin C (IC_{50} of 3.33 ppm). Phytochemical screening of the *Plectranthus scutellarioides* leaves indicated the presence of flavonoids, polyphenolic, monoterpenoids, sesquiterpenoids, steroids and triterpenoids.

Keywords: antioxidant, *Plectranthus scutellarioides*, leaves, DPPH

ABSTRAK Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi radikal bebas dalam tubuh. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui daya antioksidan dari daun *Plectranthus scutellarioides* (L.) R.Br., secara *in vitro* dengan metode spektrofotometri menggunakan pereaksi 1,1-difenil 2-pikrilhidrazil (DPPH) dengan vitamin C sebagai pembanding. Daun diekstrak menggunakan etanol lalu difraksinasi dengan *n*-heksana, etil asetat dan air. Variasi konsentrasi sampel uji yang digunakan pada pengujian ini adalah 75, 100, 115, 125 dan 135 ppm. Aktivitas antioksidan diukur secara spektrofotometri pada tiga panjang gelombang yaitu 498, 518 dan 538 nm. Hasil penelitian menunjukkan bahwa fraksi *n*-heksana pada konsentrasi tersebut memberikan aktivitas antioksidan paling kuat dengan nilai IC_{50} sebesar 52.5 ppm, 15 kali lebih lemah dibanding dengan vitamin C (IC_{50} = 3.33 ppm). Hasil penapisan fitokimia terhadap daun *Plectranthus scutellarioides* menunjukkan adanya senyawa golongan flavonoid, polifenolat, monoterpenoid, seskuiterpenoid, steroid dan triterpenoid.

Kata kunci: antioksidan, *Plectranthus scutellarioides*, daun, DPPH

Fakultas Farmasi Universitas Padjadjaran,
Jl. Raya Bandung-Sumedang KM 21
Jatinangor

Korespondensi :

Mukti W. Moelyono
moelyono@unpad.ac.id

PENDAHULUAN

Senyawa antioksidan memiliki peranan yang sangat penting dalam kesehatan. Berbagai bukti ilmiah menunjukkan bahwa senyawa antioksidan dapat mengurangi resiko penyakit degeneratif seperti kanker dan penyakit jantung koroner. Karakter utama senyawa antioksidan adalah kemampuannya untuk menangkap radikal bebas (1). Penggunaan senyawa antioksidan sebagai obat semakin berkembang seiring dengan semakin bertambahnya pengetahuan tentang pengaruh negatif radikal bebas terhadap beberapa penyakit degeneratif (2).

Radikal bebas merupakan suatu molekul yang relatif tidak stabil karena memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan di orbital paling luar. Molekul tersebut bersifat reaktif dalam mencari pasangan elektronnya. Jika sudah terbentuk dalam tubuh maka akan terjadi reaksi berantai dan menghasilkan radikal bebas baru yang akhirnya jumlahnya akan terus bertambah. Radikal bebas tersebut dapat mengoksidasi asam nukleat, protein, lemak bahkan DNA sel yang dapat menimbulkan penyakit degeneratif (1).

Selain radikal bebas, tubuh juga menghasilkan antioksidan yang dapat meredam dampak negatif reaksi radikal bebas. Selama keseimbangan antara radikal bebas dan antioksidan endogen dapat terjaga, pengaruh negatif radikal bebas dapat dinetralisasi. Jika produksi radikal bebas terus meningkat karena pengaruh faktor eksternal seperti radiasi sinar ultraviolet, pestisida, asap rokok, asap industri, dan alkohol, maka sistem pertahanan antioksidan tubuh tidak akan efektif bekerja sebagai pelindung terhadap serangan radikal bebas. Pada keadaan ini akan terjadi stres oksidatif dan akan menimbulkan berbagai penyakit, terutama penyakit degeneratif. Untuk mencegah hal itu, suplemen antioksidan dari luar sangat diperlukan. Suplemen antioksidan dapat berupa makanan atau minuman yang mengandung vitamin E, vitamin C, beta karoten, atau antioksidan alami lainnya (1).

Senyawa antioksidan yang diisolasi dari sumber alami sebagian besar berasal dari tumbuhan. Antioksidan alami terdapat dalam beberapa bagian tumbuhan, seperti pada

kayu, kulit kayu, akar, daun, buah, bunga, biji dan serbuk sari. Senyawa antioksidan alami tumbuhan umumnya adalah senyawa fenolik atau polifenolik berupa golongan flavonoid, turunan asam sinamat, kumarin, tokoferol dan asam-asam organik polifungsional. Sehubungan dengan hal itu, dalam dua dekade terakhir ini penelitian antioksidan alam banyak dilakukan, mulai dari penemuan komponen aktif antioksidan hingga pada pengujian khasiat keamanan secara *in vitro* atau *in vivo* (3).

Kandungan kimia tumbuhan iler (*Plectranthus scutellarioides* (L.) R.Br.) yang terdapat pada bagian daun dan akarnya yaitu saponin, polifenol, flavonoid, alkaloida, mineral dan komponen minyak atsiri (4). Ekstrak etanol daun iler diketahui mengandung salah satu senyawa golongan flavonoid yaitu quersetin (3,5,7,3',4'-pentahydroxyflavone) dan dilaporkan bahwa dalam ekstrak etanol daun iler mengandung quersetin sebesar 0,05% (5,6). Quersetin diketahui mampu menghambat kematian sel melalui mekanisme penghambatan peroksidasi lipid (7), sebagai antiinflamasi (8), sebagai antiulcer yang berkorelasi dengan aktivitas antioksidan melalui mekanisme penghambatan peroksidasi lipid dan penurunan enzim malondialdehid (MDA) (9).

Berdasarkan hal-hal tersebut maka daun iler berpotensi mempunyai aktivitas antioksidan sehingga tumbuhan ini sangat prospektif untuk dikembangkan agar pemanfaatannya menjadi lebih optimal. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan dari daun iler pada ekstrak etanol, fraksi n-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air.

METODE PENELITIAN

Bahan

Bahan tumbuhan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu simplisia daun iler (*Plectranthus scutellarioides* (L.) R.Br.) yang diperoleh dari daerah Lembang, Jawa Barat.

Bahan kimia yang digunakan antara lain bahan penyari berupa air suling, kloralhidrat, kloroform, asam klorida 2N, pereaksi Mayer, pereaksi Dragendorf, pereaksi Liebermann Burchard, besi (III) klorida 1%, gelatin 1%, serbuk magnesium, amil alkohol, eter, vanilin 10%, asam

sulfat pekat, kalium hidroksida 5 %, etanol, metanol, *silica gel* GF 254, *n*-heksana, etil asetat, aseton, DPPH (1,1-difenil 2-pikrilhidrazil).

Alat

Alat yang digunakan meliputi kaca objek, labu ukur, maserator, penangas air, pipet volume, *rotary evaporator*, spektrofotometer cahaya ultraviolet-visibel (Analytikjena Specord 200®), tabung reaksi, dan lain-lain.

Cara kerja

Pengumpulan Sampel Tanaman dan Determinasi

Bahan tanaman yang digunakan adalah daun iler (*Plectranthus scutellarioides* (L.) R.Br.) diperoleh dari kebun percobaan di Manoko-Lembang. Bahan dideterminasi di Laboratorium Taksonomi Tumbuhan, Jurusan Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Padjadjaran.

Pemeriksaan Karakteristik Simplisia

Pemeriksaan karakteristik simplisia meliputi makroskopik dan mikroskopik. Pemeriksaan makroskopik meliputi pemeriksaan warna daun, ukuran daun, bentuk daun, sedangkan pemeriksaan mikroskopik meliputi pemeriksaan serbuk simplisia.

Penapisan Fitokimia Simplisia

Penapisan fitokimia dilakukan berdasarkan metode standar (10), dan dilakukan untuk mengetahui adanya golongan senyawa alkaloid, monoterpenoid, seskuiterpenoid, flavonoid, tanin, polifenol, triterpenoid, steroid, kuinon, dan saponin.

Penyiapan Ekstrak

Simplisia daun iler yang telah dirajang ditimbang kemudian diekstraksi dengan cara maserasi selama 3 x 24 jam menggunakan pelarut etanol 70%. Maserat ditampung setiap hari dan pelarut diganti. Maserat kemudian dikisatkan dengan menggunakan *rotary evaporator* kemudian penguapan dilanjutkan dengan menggunakan *water bath* (40°C).

Fraksionasi

Fraksionasi dilakukan dengan metode ekstraksi cair-cair (ECC). Sejumlah ekstrak dilarutkan dalam 100 mL air, dimasukkan ke dalam corong pisah dan ditambah *n*-heksana sebanyak 100 mL, didiamkan,

kemudian dikocok, sesekali udara didalam corong pisah dikeluarkan, kemudian didiamkan hingga kedua pelarut terpisah sempurna. Pemisahan diulang hingga diperoleh fraksi *n*-heksana yang hampir tidak berwarna. Fraksi *n*-heksana dan fraksi air dipisahkan. Pada lapisan air ditambahkan pelarut etil asetat dan dikocok seperti prosedur diatas. Fraksi *n*-heksana, etil asetat dan air diuapkan.

Uji Aktivitas Antioksidan

Uji aktivitas antioksidan sampel yang terdiri atas ekstrak air, ekstrak etanol, fraksi etil asetat dan *n* heksan dilakukan dengan metode DPPH (11), sebagai berikut :

1. Pembuatan larutan uji dan larutan pembanding
Dibuat larutan uji dan larutan pembanding dalam berbagai konsentrasi dalam pelarut etanol. Ekstrak, fraksi ekstrak dan vitamin C ditimbang sebanyak 500 mg, masing-masing dilarutkan dalam 100 ml etanol, didapat masing-masing larutan awal untuk pengenceran larutan uji 0,5%.
2. Pembuatan larutan DPPH
DPPH (4,0 mg) dilarutkan dalam etanol sampai 100,0 mL, sehingga didapat larutan 0,004% (40,0 ppm). Larutan dijaga pada suhu rendah, terlindungi dari cahaya untuk segera digunakan.
3. Penetapan I maksimum DPPH
Larutan DPPH (3,0 mL), ditambahkan etanol 1,5 mL, dihomogenkan, dan diamati absorbansinya pada 1400-700 nm.
4. Pengukuran absobansi untuk menentukan % inhibisi senyawa uji
Larutan uji (1,5 mL) dalam berbagai konsentrasi, ditambah larutan DPPH (3 mL), dihomogenkan, diamkan 30 menit dan dibaca absorbansinya pada tiga panjang gelombang yaitu 498, 518 dan 538 nm ($\lambda_{max} = 518$ nm). Sebagai blangko digunakan etanol.
5. Pengukuran IC_{50} (*Inhibition Concentration* 50%)
Harga IC_{50} dihitung dari kurva regresi linier antara % inhibisi serapan dalam berbagai konsentrasi ekstrak (larutan uji)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi Simplisia dan Fraksionasi

Ekstraksi yang dilakukan terhadap 107 gram simplisia kering, dengan cara maserasi selama 3

x 24 jam menggunakan etanol 70% menghasilkan rendemen 26, 24 gram ekstrak kental (24,52%). Sebanyak 17 gram ekstrak kental diambil untuk fraksinasi. Pada fraksinasi dengan menggunakan *n*-heksana, etilasetat, dan air dengan perbandingan masing-masing 1 : 1 diperoleh tiga fraksi, yaitu fraksi *n*-heksana, fraksi etilasetat, dan fraksi air dengan berat masing-masing 0,85; 3,24 dan 7,73 gram.

Uji Fitokimia

Hasil uji fitokimia simplisia daun iler menunjukkan kandungan senyawa golongan flavonoid, polifenolat, monoterpenoid, seskuiterpenoid, steroid dan triterpenoid (Tabel 1). Golongan senyawa flavonoid dan polifenolat diketahui mempunyai aktivitas antioksidan (7,8,9).

Tabel 1. Hasil Uji Fitokimia daun iler (*Plectranthus scutellarioides* (L.) R.Br.)

No	Senyawa kimia yang diperiksa	Ekstrakk	Fraksi n-heksana	Fraksi etilasetat	Fraksi air
1	Alkaloid	-	-	-	-
2	Polifenolat	+	+	+	+
3	Tanin	-	-	-	-
4	Flavonoid	+	+	+	+
5	Mono dan seskuiterpenoid	+	+	+	-
6	Steroid dan triterpenoid	+	+	+	-
7	Kuinon	-	-	-	-
8	Saponin	+	-	+	+

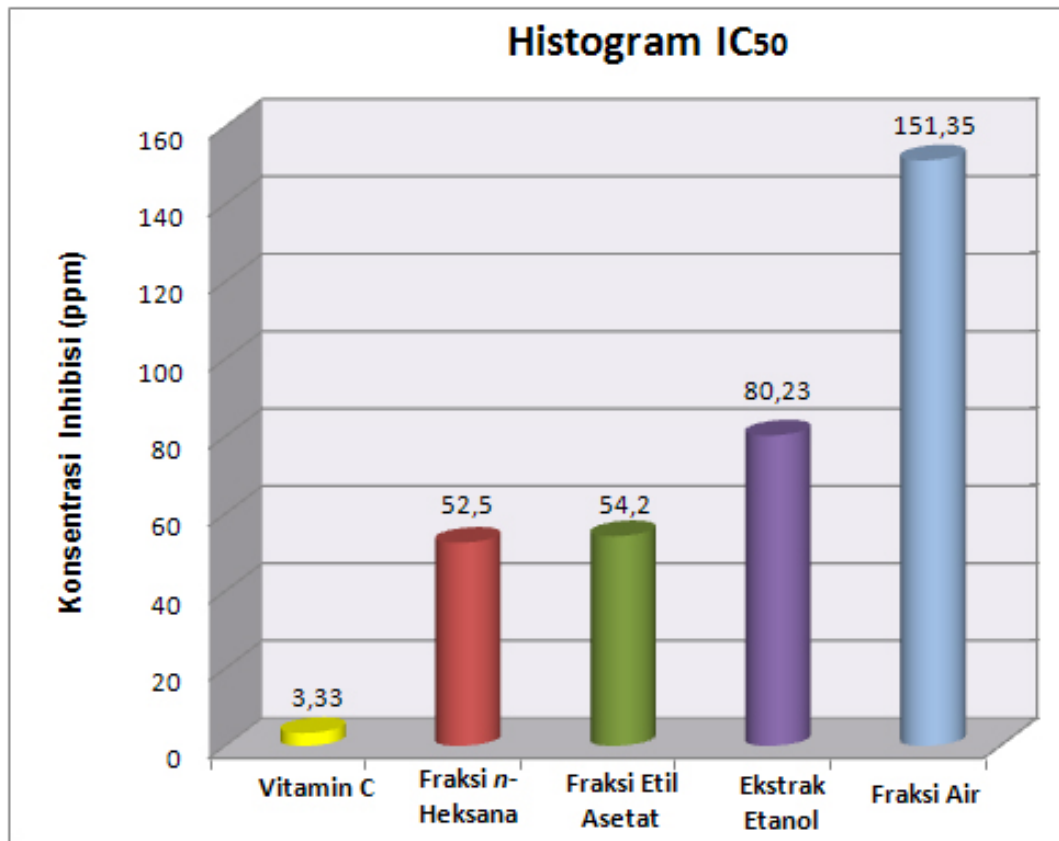
Keterangan : (+) = Terdeteksi
(-) = Tidak terdeteksi

Tabel 2. Persentase Inhibisi dari Larutan Uji terhadap DPPH

No	Sampel Uji	Persentase inhibisi (%)				
		Konsentrasi (ppm)				
		135	125	115	100	75
1	Ekstrak Etanol	82,66	70,52	65,09	64,74	51,35
2	Fraksi n-Heksana	60,61	59,32	57,19	55,90	53,07
3	Fraksi Etilasetat	95,63	92,09	81,48	75,35	62,50
4	Fraksi Air	48,70	48,23	46,58	45,99	43,87

Tabel 3. Persentase Inhibisi Vitamin C (pembanding) terhadap DPPH

No.	Konsentrasi (ppm)	% Inhibisi
1.	10	76,58
2.	8	71,58
3.	6	63,32
4.	4	48,47
5.	2	46,04



Gambar 1. IC₅₀ ekstrak etanol, fraksi n- heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air

Aktivitas Antioksidan

Hasil uji aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol, fraksi etil asetat, fraksi n-heksan dan fraksi air daun iler ditunjukkan sebagai persentase penghambatan radikal bebas (DPPH) (Tabel 2) dan dibandingkan dengan aktivitas antioksidan vitamin C (Tabel 3).

Berdasarkan nilai % inhibisi dari masing-masing larutan uji dan larutan pembanding (vitamin C) dalam berbagai konsentrasi, kemudian dihitung dan diperoleh nilai IC₅₀, sebagaimana yang disajikan Gambar 1.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan dengan aktivitas yang lebih besar berturut-turut yaitu pada fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, fraksi etanol dan fraksi air dengan IC₅₀ masing-masing yaitu 52,5; 54,2; 80,23 dan 152,35 ppm. Fraksi air daun iler memberikan aktivitas antioksidan terendah. Hal ini diduga pada fraksi air daun iler memberikan kandungan senyawa flavonoid terikat sebagai glikosida lebih

besar dibandingkan pada ekstrak etanol dan fraksi-fraksinya. Pelarut air merupakan pelarut polar, oleh karena itu senyawa yang terekstrak dalam air adalah senyawa yang terikat sebagai glikosidanya yang menyebabkan halangan sterik sehingga menghambat reaksi penangkapan radikal bebas. Hal ini juga didukung oleh penelitian beberapa penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa aktivitas antioksidan bentuk aglikon dari flavonoid lebih efektif dibandingkan glikosidanya (12).

Fraksi n-heksan daun iler mempunyai aktivitas antioksidan tertinggi, hal ini diperkirakan karena kandungan flavonoid bebas dalam bentuk aglikon pada fraksi n-heksan lebih tinggi dibandingkan pada ekstrak etanol, air dan fraksi etilasetat. Namun demikian, aktivitas antioksidan fraksi n-heksan daun iler 15 kali lebih lemah dibandingkan dengan vitamin C. Selain sebagai flavonoid bebas, aktivitas antioksidan flavonoid juga tergantung pada susunan gugus fungsi pada struktur inti flavonoid. Konfigurasi, substitusi, dan jumlah total

gugus hidroksil sangat mempengaruhi mekanisme aktivitas antioksidan seperti penangkap radikal bebas dan kemampuannya sebagai *chelating ion* logam (12). Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang karakterisasi dan metode isolasi senyawa senyawa aktif daun iler dan mekanismenya sebagai antioksidan.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil pengujian aktivitas antioksidan terhadap ekstrak etanol dan beberapa

fraksi daun iler dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air daun iler menunjukkan aktivitas antioksidan lemah. Aktivitas antioksidan paling kuat ditunjukkan oleh fraksi *n*-heksana dengan nilai IC_{50} sebesar 52,5 ppm, 15 kali lebih lemah dibandingkan vitamin C (IC_{50} = 3,33 ppm). Fraksi air mempunyai aktivitas antioksidan paling lemah yaitu dengan nilai IC_{50} = 151,35 ppm, sedangkan fraksi etil asetat dan ekstrak etanol mempunyai nilai IC_{50} masing-masing 54,20 dan 80,23 ppm.

DAFTAR PUSTAKA

1. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol* 2007; 39: 44-84.
2. Lobo V, Patil A, Phatak A, Chandra N. Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacognosy Reviews* 2010; 4(8): 118-126.
3. Pandey KB, Rizvi SI. Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2009; 2(5): 270-278.
4. Lisdawati V, Mutiatikum D, Alegantina S, Astuti Y. Karakterisasi daun miana (*Plectranthus scutellarioides* (L.) Bth.) dan buah sirih (*Piper betle* L.) secara fisiko kimia dari ramuan lokal antimalaria daerah Sulawesi Utara. *Media Litbang Kesehatan* 2008; 18(4): 213-225.
5. Moektiwardoyo M, Etnopharmacognosy of Jawer Kotok leaves, *Plectranthus scutellarioides* (L.) R.Br. as antiinflammatory agent in Sundanese Community, Doctoral Dissertation. Bandung, Indonesia: Universitas Padjadjaran; 2010.
6. Moektiwardoyo M, Levita J, Sidiq SP, Ahmad K, Mustarichie R, Subarnas A and Supriyatna, The determination of quercetin in *Plectranthus scutellarioides* (L.) R.Br. leaves extract and its in silico study on histamine H4 receptor. *Majalah Farmasi Indonesia* 2011; 22(3): 191-196.
7. Jembrek MJ, Vuković L, Puhović J, Erhardt J, Oršolić N. Neuroprotective Effect of Quercetin Against Hydrogen Peroxide-induced Oxidative Injury in P19 Neurons. *J Mol Neuroscience* 2012; 47(2): 286-299.
8. Morikawa K, Nonaka M, Narahara M, Torii I, Kawaguchi K, Yoshikawa T, Kumazawa Y, Morikawa S. Inhibitory effect of quercetin on carrageenan-induced inflammation in rats. *Life Sci* 2003; 74: 709-721.
9. Coşkun O, Kanter M, Armutçu F, Çetin K, Kaybolmaz B, Yazgan O. Protective effects of quercetin, a flavonoid antioxidant, in absolute ethanol-induced acute gastric ulcer. *Eur J Gen Med* 2004; 1(3): 37-42.
10. Tiwari P, Kumar B, Kaur M, Kaur G, Kaur H. Phytochemical screening and Extraction: A Review. *Internationale Pharmaceutica Scientia* 2011; 1(1): 98-106.
11. Molyneux P. The use of the stable free radical diphenylpicryl-hydrazil (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin J Science Technology* 2004; 26(2): 211-219.
12. Kumar S and Pandey AK. Chemistry and biological activities of flavonoids: An overview. *Scientific World Journal* 2013 (2013): 1-16.