

TOTAL FENOLAT DAN FLAVONOID DARI EKSTRAK DAN FRAKSI DAUN KUMIS KUCING (*Orthosiphon stamineus* B.) JAWA TENGAH SERTA AKTIVITAS ANTIOKSIDANNYA

Putri Pratiwi, Meiny Suzery, Bambang Cahyono

Laboratorium Kimia Organik, Jurusan Kimia MIPA, Universitas Diponegoro. Jl. Prof Sudharto, Tembalang Semarang 50275 (email: bambang_cahyono@undip.ac.id)

ABSTRAK---*Orthosiphon stamineus* B (Indonesia: Kumis Kucing) merupakan salah satu tumbuhan sangat populer sebagai sumber pengobatan herbal, pada umumnya dikumpulkan dari pulau Jawa. Aktivitas biologis, terutama aktivitas antioksidan yang ditunjukkan oleh tanaman ini diduga disebabkan oleh senyawa golongan fenolat, khususnya senyawa flavonoid. Oleh sebab itu, penelitian ini bertujuan menentukan total fenolat, total flavonoid dan aktivitas antioksidan dari ekstrak metanol beserta fraksi-fraksinya dari tanaman kumis kucing yang tumbuh di Indonesia, khususnya di daerah Bandungan, Kabupaten Semarang, Provinsi Jawa Tengah, perlu dilakukan. Secara garis besar, penelitian dibagi menjadi empat tahap, yakni perolehan total ekstrak metanol, diikuti dengan tahap fraksinasi melalui gradien pelarut, kemudian analisis total fenolat dan flavonoid, dan diakhiri dengan analisis aktivitas antioksidan terhadap tiap-tiap ekstrak. Analisis total fenolat dilakukan dengan metode *Folin-Ciocalteu*, analisis flavonoid dilakukan berdasarkan cara kerja Rohman, dan aktivitas antioksidan ditentukan dengan metode peredaman radikal DPPH. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kandungan total fenolat dan flavonoid terbesar berada dalam ekstrak etil asetat berturut-turut sebesar 559 mg asam galat ekuivalen/g ekstrak dan 3550 mg kuersetin ekuivalen/g ekstrak. Aktivitas antioksidan tertinggi juga dimiliki oleh ekstrak etil asetat dengan nilai EC_{50} sebesar 51,02 $\mu\text{g/mL}$. Nilai aktivitas antioksidan yang ditunjukkan oleh semua fraksi dalam daun kumis kucing sangat memungkinkan bahan ini dapat digunakan sebagai sumber antioksidan.

Kata Kunci: kumis kucing, *Orthosiphon stamineus*, total fenolat, total flavonoid, antioksidan

TOTAL PHENOLIC, TOTAL FLAVONOID AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF INDONESIAN ORTHOSIPHON STAMENEUS

ABSTRACT---*Orthosiphon stamineus* B (Lamiaceae) is a popular medicinal herb in South-east Asia, it was originated in Java Island and is well known by name of "Kumis Kucing.". The biological activity of this plant, especially the antioxidant activity, is caused by the presence of compounds from phenolic group, especially come from flavonoid compounds. Therefore, the aim of this research is to determine total phenolic, total flavonoid and antioxidant activity analysis of methanol extract and its fractions of *Orthosiphon stamineus* B from Indonesia, especially Bandungan, Kabupaten Semarang, Jawa Tengah. The method of this research is consists of dried leaf extraction by methanolic, partition with solvent gradient, analysis of total phenolic and flavonoid content and antioxidant activity analysis. The total phenolic content analyzed by *Folin-Ciocalteu* method, total flavonoid content analyzed by Rohman method and antioxidant activity analyzed by DPPH radical scavenging method. The result showed that the highest phenolic and flavonoid content is in the ethyl acetate extract with value 559 mg gallic acid equivalent/g extract and 3550 mg quercetin equivalent/g extract, respectively. The ethyl acetate has the strongest antioxidant activity with 51.02 $\mu\text{g/mL}$ of EC_{50} value. The finally antioxidant activity is shown in all extract of Indonesian *Orthosiphon stamineus* B can be used as antioxidant source.

Keywords: *Orthosiphon stamineus*, kumis kucing, total phenolic, total flavonoid, antioxidant activity

PENDAHULUAN

Antioksidan merupakan senyawa penting dalam menjaga kesehatan tubuh karena berfungsi memutus reaksi berantai dari radikal bebas yang terdapat dalam tubuh

(Hernani dan Rahardjo, 2005). Aktivitas tersebut disebabkan oleh keberadaan senyawa-senyawa fenolat seperti kuersetin, eugenol, dan rutin. Mengingat hal tersebut, penelitian yang berhubungan dengan

antioksidan hingga saat ini masih menarik untuk diteliti (Ramesh dan Satakopan, 2010).

Salah satu contoh tanaman yang diduga memiliki aktivitas antioksidan cukup tinggi adalah kumis kucing, *Orthosiphon stamineus* B. (Zakaria dkk., 2008). Spesies ini merupakan tumbuhan khas dari Pulau Jawa yang populer dalam pengobatan herbal, terutama di Kawasan Asia (Shibuya dkk., 1999). Berdasarkan Daftar Obat Alam (Sukistiyowati, 2008), ekstrak tumbuhan ini telah digunakan sebagai bahan pada formula untuk penyembuhan diabetes, diuretik (peluruh urin), anti-hipertensi, anti-inflamasi (analgesik), dan penurun kadar asam urat. Informasi mengenai penggunaan tanaman kumis kucing sebagai formula antioksidan dalam buku tersebut hingga saat ini belum ada, padahal telah diketahui bahwa tanaman tersebut mengandung senyawa-senyawa flavonoid (Khamsah dkk., 2006). Dalam laporannya, telah membandingkan kandungan senyawa fenolat dan antioksidan dari kumis kucing yang berasal dari sepuluh lokasi yang berbeda, termasuk dari Pulau Jawa. Bagaimanapun, penelitian yang menggunakan sampel lebih spesifik, khususnya yang berasal dari daerah Bandungan, Kabupaten Semarang, Provinsi Jawa Tengah, hingga saat ini belum pernah dipublikasikan. Selain itu, fraksinasi terhadap ekstrak sampel kumis kucing dari daerah tersebut, yang diikuti dengan analisis jumlah fenolat, flavonoid dan aktivitas antioksidannya, hingga saat ini belum pernah dilaporkan juga.

Secara garis besar, penelitian dibagi menjadi empat tahapan, yaitu perolehan total ekstrak metanol, kemudian diikuti fraksinasi dengan metode gradien pelarut, selanjutnya analisis total fenolat dan flavonoid, dan diakhiri dengan analisis aktivitas antioksidan untuk tiap-tiap fraksi. Penelitian ini sangat penting dilakukan dalam upaya memperoleh gambaran yang lebih rinci mengenai kualitas secara kimiawi dari tanaman kumis kucing daerah Bandungan, yang selanjutnya diharapkan dapat dijadikan dasar bagi pengembangan formulasi obat tradisional.

METODOLOGI PENELITIAN

Material Tanaman

Daun kumis kucing diperoleh dari petani pengepul di daerah Bandungan, Kabupaten Semarang, Provinsi Jawa Tengah pada November 2009.

Penentuan Kadar Air Simplisia.

Simplisia ditimbang sebanyak 1g dalam cawan yang telah diketahui bobotnya. Simplisia kemudian dikeringkan dalam oven pada suhu 110 °C selama 3 jam dan didinginkan dalam eksikator. Pekerjaan diulang sampai simplisia mencapai berat konstan. Selisih berat yang sebelum dan sesudah pengeringan adalah banyaknya air yang diuapkan (SNI 01-2891-1992 butir 5.1).

Persiapan Ekstrak

Sebanyak 425 g daun kumis kucing kering dimaserasi dalam 500 mL metanol selama 3x24 jam. Filtrat yang diperoleh dipekatkan menggunakan vakum *rotary evaporator* sehingga diperoleh ekstrak metanol. Ekstrak metanol selanjutnya diekstraksi dengan corong pisah menggunakan campuran pelarut akuades:*n*-heksan (1:1). Filtrat air yang diperoleh, selanjutnya diekstraksi kembali, berturut-turut menggunakan pelarut dikloro metan dan etil asetat. Akhirnya, masing-masing filtrat hasil ekstraksi dievaporasi sehingga diperoleh ekstrak *n*-heksan, ekstrak dikloro metan, ekstrak etil asetat, dan ekstrak air.

Analisis kualitatif Senyawa Fenolat dan Flavonoid

Masing-masing ekstrak (1 g) ditambahkan pelarut campuran kloroform/akuades (1/1). Campuran dikocok dalam tabung reaksi dan dibiarkan sejenak hingga terbentuk dua lapisan. Lapisan air yang berada di atas digunakan untuk pemeriksaan flavonoid dan fenolat (Mojab dkk., 2003).

Pemeriksaan Keberadaan Senyawa Fenolat. Lapisan air dimasukkan ke dalam plat tetes dan ditambahkan pereaksi AlCl_3 . Reaksi positif ditandai dengan terbentuknya warna biru-ungu.

Pemeriksaan Keberadaan Senyawa Flavonoid Lapisan air diambil sedikit kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan sedikit bubuk logam Mg serta beberapa tetes asam klorida (HCl) pekat. Reaksi positif ditandai dengan terbentuknya warna kuning-oranye.

Analisis Kuantitatif Total Fenolat dan Flavonoid

Pemeriksaan analisis kuantitatif total fenolat dan flavonoid dilakukan terhadap data positif dari pemeriksaan keberadaan senyawa fenolat dan flavonoid.

Pembuatan Kurva Kalibrasi Asam Galat. Kurva standar asam galat dibuat berdasarkan metode Waterhouse (1999). Larutan asam galat (dalam akuades) dibuat dalam konsentrasi 300, 400, 500, 600, dan 700 mg/L. Sebanyak 0,2 mL larutan dari berbagai konsentrasi diencerkan dengan 15,8 mL akuades dan direaksikan dengan 1 mL reagen *Folin-Ciocalteu*, kemudian larutan dikocok dan didiamkan selama 8 menit. Sebanyak 3 mL larutan Na_2CO_3 20% ditambahkan ke dalam larutan, kemudian dikocok hingga larutan homogen dan didiamkan selama 30 menit pada suhu kamar. Pada akhirnya, absorbansi dari larutan standar diukur pada panjang gelombang 765 nm menggunakan *spektrofotometer UV-Vis*. Kurva standar diperoleh dari hubungan antara konsentrasi asam galat (mg/L) dengan absorbansi.

Penentuan Fenolat Total Kandungan fenolat total ditentukan menggunakan reagen *Folin-Ciocalteu* berdasarkan metode Orak (2006). Sebanyak 0,2 mL dari masing-masing larutan tersebut direaksikan dengan 15,8 mL akuades dan 1 mL reagen *Folin-Ciocalteu*, kemudian larutan dikocok dan didiamkan selama 8 menit. Sebanyak 3 mL larutan Na_2CO_3 20% ditambahkan ke dalam masing-masing larutan, kemudian dikocok hingga larutan homogen dan didiamkan

selama 30 menit pada suhu kamar. Pada akhirnya, absorbansi dari setiap larutan ini diukur pada panjang gelombang 765 nm. Kandungan fenolat total dinyatakan sebagai jumlah mg asam galat ekuivalen tiap g ekstrak.

Pembuatan Kurva Kalibrasi Kuersetin. Kurva standar kuersetin dibuat berdasarkan metode Rohman dkk. (2006). Larutan kuersetin (dalam metanol) dibuat dalam konsentrasi 700, 800, 900, 1000, dan 1100 mg/L. Sebanyak 0,5 mL larutan dari berbagai konsentrasi direaksikan dengan 2 mL akuades dan 0,15 mL NaNO_2 5% kemudian didiamkan selama 6 menit. Sebanyak 0,15 mL AlCl_3 10% ditambahkan ke dalam larutan, kemudian didiamkan kembali selama 6 menit. Larutan direaksikan dengan 2 mL NaOH 4%, kemudian diencerkan hingga volume total mencapai 5 mL dan didiamkan selama 15 menit. Pada akhirnya, absorbansi dari larutan standar diukur pada panjang gelombang 510 nm menggunakan *spektrofotometer UV-Vis*. Kurva standar diperoleh dari hubungan antara konsentrasi kuersetin (mg/L) dengan absorbansi.

Penentuan Flavonoid Total Kandungan Flavonoid total ditentukan berdasarkan metode kerja Rohman dkk. (2006). Sebanyak 0,5 mL dari tiap larutan ekstrak direaksikan dengan 2 mL akuades dan 0,15 mL NaNO_2 5% kemudian didiamkan selama 6 menit. Sebanyak 0,15 mL AlCl_3 10% ditambahkan ke dalam larutan, kemudian didiamkan kembali selama 6 menit. Larutan direaksikan dengan 2 mL NaOH 4%, kemudian diencerkan hingga volume total mencapai 5 mL dan didiamkan selama 15 menit. Pada akhirnya, absorbansi dari larutan ekstrak diukur pada panjang gelombang 510 nm menggunakan *spektrofotometer UV-Vis*. Pengukuran juga dilakukan terhadap blanko berupa akuades. Kandungan flavonoid total dinyatakan sebagai jumlah g kuersetin ekuivalen tiap g ekstrak.

Penentuan Aktivitas Antioksidan menggunakan Metode DPPH

Pemeriksaan ini dilakukan terhadap data positif dari pemeriksaan keberadaan senyawa fenolat dan flavonoid, berdasarkan metode kerja Molyneux, 2004.

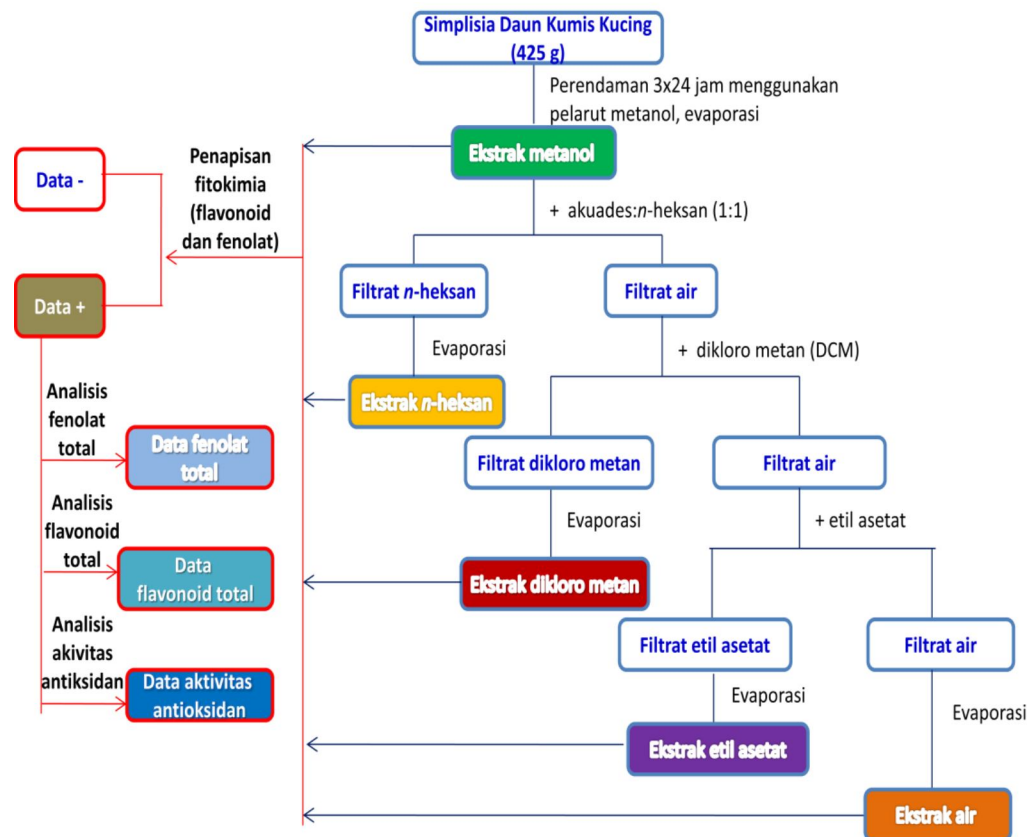
Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimum DPPH: Larutan DPPH 50 µM dibuat dengan melarutkan 1,97 mg serbuk DPPH dalam metanol hingga volume 100 mL. Sebanyak 3,8 mL larutan DPPH 50 µM direaksikan dengan 0,2 mL metanol, kemudian didiamkan selama 30 menit dalam tempat gelap. Pada akhirnya, absorbansi maksimum pada 515 nm diperoleh setelah larutan diukur pada panjang gelombang 400-600 nm menggunakan *spektrofotometer UV-Vis*, yang merupakan absorbansi kontrol DPPH. Digunakan metanol sebagai blanko.

Penentuan Aktivitas Antioksidan. Larutan ekstrak metanol 1 mg/mL dibuat dengan melarutkan 25 mg ekstrak dalam 25 mL metanol. Hal yang sama dilakukan pula dalam membuat larutan ekstrak etil asetat dan air. Masing-masing larutan selanjutnya diencerkan dengan menambahkan metanol

hingga diperoleh konsentrasi 10, 30, 50, 70, dan 90 µg/mL. Penentuan aktivitas antioksidan dilakukan terhadap berbagai konsentrasi dengan memasukan 0,2 mL larutan sampel ke dalam vial dan direaksikan dengan 3,8 mL larutan DPPH 50 µM. Campuran dihomogenkan dan didiamkan selama 30 menit di tempat gelap. Pada akhirnya, absorbansi diukur pada panjang gelombang 515 nm menggunakan *spektrofotometer UV-Vis*. Sebagai pembanding, hal yang sama dilakukan pula terhadap kuersetin dan BHT. Kemampuan untuk meredam radikal DPPH (inhibisi) dihitung menggunakan persamaan:

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{A_0 - A_s}{A_0} \times 100\%$$

Secara garis besar, tahap-tahap dalam penelitian ini disajikan pada Gambar 2.1.



Gambar 2.1. Bagan metodologi penelitian

HASIL DAN PEMBAHASAN

Perkembangan penelitian mengenai antioksidan dalam dunia medis umumnya dilakukan dengan lingkup analisis total senyawa fenolat, analisis total senyawa flavonoid (atau senyawa peredam antioksidan lain) dan dilanjutkan dengan uji aktivitas antioksidan melalui peredaman radikal bebas dengan metode DPPH. Pada akhirnya, ketiga parameter tersebut telah tersaji sebagai data hasil penelitian.

Persiapan Sampel dan Ekstraksi

Dalam penelitian ini, simplisia daun kumis kucing yang digunakan memiliki kadar air sebesar 3,69%. Hal ini sesuai dengan SNI (Standar Nasional Indonesia) 01-3709-1995 mengenai **Bubuk dan Rempah-rempah**, yang menyatakan bahwa simplisia bahan makanan dan obat diharapkan memiliki kadar air maksimal sebesar 12%. Simplisia kemudian dimaserasi menggunakan pelarut metanol dan dievaporasi sehingga diperoleh ekstrak metanol. Partisi lebih lanjut terhadap ekstrak metanol dilakukan dengan menambahkan pelarut *n*-heksana, dikloro metan (DCM) sehingga diperoleh ekstrak *n*-heksana, DCM, etil asetat, dan air dengan ekstrak total seperti Tabel 1.

Tabel 1. Ekstrak daun kumis kucing

Ekstrak	Ekstrak Kasar (g)	Rendemen ekstrak (%)
Metanol	23,76	5,6
<i>n</i> -Heksan	4,82	1,1
Dikloro Metan	2,12	0,5
Etil Asetat	1,42	0,3
Air	9,10	2,1

Analisis Kualitatif Senyawa Fenolat dan Flavonoid

Analisis ini dilakukan guna mengetahui secara kualitatif keberadaan senyawa fenolat dan flavonoid dalam ekstrak daun kumis kucing dengan hasil yang tersaji pada Tabel 3.2.

Tabel 3.2. Ekstrak daun kumis kucing

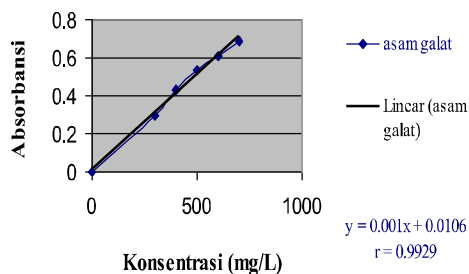
Ekstrak	Senyawa Fenolat	Senyawa Flavonoid
Metanol	+	+
<i>n</i> -Heksan	-	-
Dikloro Metan	-	-
Etil Asetat	+	+
Air	+	+

Hasil di atas dapat diduga bahwa senyawa fenolat dan flavonoid cenderung larut dalam ekstrak polar hingga semi polar, sesuai dengan prinsip *like dissolve like*. Semua ekstrak yang memiliki hasil positif pada tes di atas, selanjutnya dianalisis lebih lanjut melalui uji kuantitatif dan aktivitas antioksidan.

Analisis Kuantitatif Senyawa Fenolat dan Flavonoid

Penentuan Total Fenolat

Penentuan kadar senyawa fenolat total dilakukan dengan membuat kurva standar asam galat dengan konsentrasi 300-700 mg/L pada panjang gelombang 765 nm. Kurva standar, seperti Gambar 3.1, dibuat sebagai pembandingan ekuivalen senyawa fenolat yang terdapat dalam daun kumis kucing, dengan demikian kurva tersebut berguna dalam membantu menentukan kadar fenolat total. Penelitian terhadap larutan standar asam galat menghasilkan persamaan regresi $y = 0,001x + 0,0106$ dengan koefisien korelasi (r) sebesar 0,9929. Andayani dkk. (2008) menyatakan bahwa nilai r yang mendekati satu menunjukkan persamaan regresi tersebut linear dan dapat digunakan karena konsentrasi yang mempengaruhi absorbansi sebesar 99%.



Gambar 1. Kurva standar asam galat

Senyawa-senyawa fenolat diduga memberi kontribusi terhadap aktivitas antioksidan dalam tanaman ini, namun memiliki kadar yang berbeda dalam tiap ekstraknya (Khamsah dkk., 2006). Kandungan fenolat total dalam tiap ekstrak, seperti tersaji pada Tabel 3, ditentukan berdasarkan perhitungan melalui persamaan regresi linear dari kurva standar.

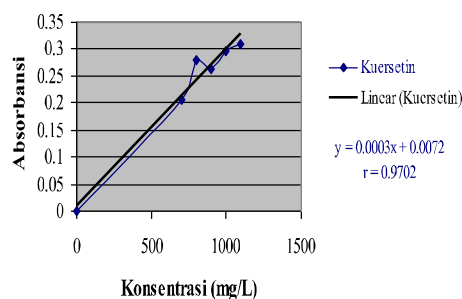
Tabel 3. Hasil analisis fenolat total dalam ekstrak daun kumis kucing

Ekstak	Absorban	Konsentrasi Asam Galat (mg/L)	Kandungan Fenolat Total (mg Asam Galat Ekuivalen tiap g ekstrak)
Metanol	0,422	411,4	103,9
Etil Asetat	0,354	343,4	559,0
Air	0,355	344,4	73,7

Hasil penelitian menunjukkan bahwa fenolat total paling tinggi terkandung dalam ekstrak etil asetat, hal ini berarti sampel daun kumis kucing memiliki banyak senyawa-senyawa fenolat yang bersifat semi polar. Penelitian serupa telah dilakukan oleh Matkowski (2008) menghasilkan senyawa fenolat total dalam ekstrak etil asetat daun kumis kucing yang tumbuh di daerah Kawon, Polandia sebesar 272,8 mg asam galat tiap g ekstrak. Di duga bahwa tempat tumbuh tanaman, yang didukung oleh iklim dan unsur tanah menyebabkan kadar fenolat total yang terkandung dalam tanaman berbeda.

Penentuan Total Flavonoid

Penentuan kadar flavonoid total dimulai dengan membuat kurva standar kuersetin dengan konsentrasi 700-1100 mg/L pada panjang gelombang 510 nm. Kurva standar kuersetin, seperti Gambar 3.2, dibuat dengan fungsi yang serupa dengan kurva standar asam galat dalam penentuan fenolat total. Kurva ini berguna dalam membantu menentukan kadar flavonoid total. Penelitian terhadap larutan standar kuersetin menghasilkan persamaan regresi $y = 0,0003x + 0,0072$ dengan koefisien korelasi (r) sebesar 0,9702. Andayani dkk. (2008) menyatakan bahwa nilai r yang mendekati satu menunjukkan persamaan regresi tersebut linear dan dapat digunakan meskipun konsentrasi yang mempengaruhi absorbansi hanya 97%.



Gambar 3.2. Kurva standar kuersetin

Senyawa flavonoid diduga pula memberikan kontribusi terhadap aktivitas antioksidan (Khamsah dkk., 2006). Kandungan flavonoid total masing-masing ekstrak, seperti Tabel 3.4, diperoleh melalui cara yang sama seperti menentukan senyawa fenolat total.

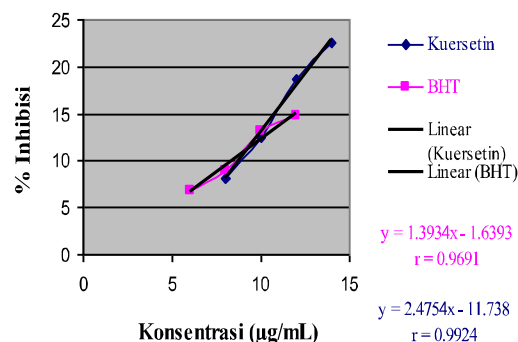
Tabel 4. Hasil analisis fenolat total dalam ekstrak daun kumis kucing

Ekstak	Absorbansi	Konsentrasi Asam Galat (mg/L)	Kandungan Fenolat Total (mg Asam Galat Ekuivalen tiap g ekstrak)
Metanol	0,422	411,4	103,9
Etil Asetat	0,354	343,4	559,0
Air	0,355	344,4	73,7

Penentuan Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH

Aktivitas antioksidan adalah kemampuan suatu senyawa atau ekstrak untuk menghambat reaksi oksidasi yang dapat dinyatakan dengan persen (%) inhibisi. Parameter yang digunakan untuk menunjukkan aktivitas antioksidan adalah harga *efficient concentration* (EC_{50}) atau *inhibition concentration* (IC_{50}), yaitu konsentrasi suatu zat antioksidan yang dapat menyebabkan 50% DPPH kehilangan karakter radikal atau konsentrasi suatu zat antioksidan yang memberikan persen inhibisi sebesar 50%. Zat dengan aktivitas antioksidan yang tinggi mempunyai harga EC_{50} yang rendah (Andayani dkk., 2008).

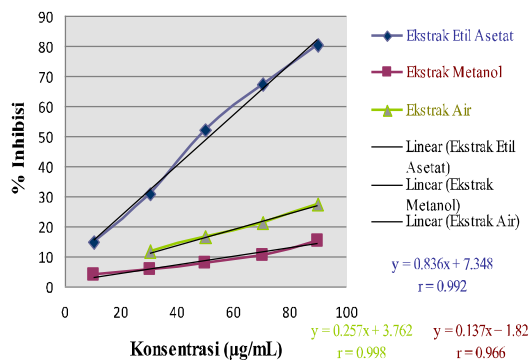
Dalam penelitian ini, uji aktivitas dimulai dengan mengukur serapan DPPH dalam metanol sebagai absorbansi kontrol. Pengukuran juga dilakukan terhadap kuersetin dan BHT sebagai standar pada panjang gelombang 515 sehingga diperoleh kurva aktivitas antioksidan seperti Gambar 3.3. Harga EC_{50} sebesar 24,94 $\mu\text{g/mL}$ diperoleh larutan standar kuersetin setelah memasukan persen inhibisi sebesar 50% ke dalam persamaan regresi linear pada kurva aktivitas antioksidan seperti yang tersaji di atas. Hal yang sama dilakukan terhadap larutan standar BHT sehingga diperoleh harga EC_{50} sebesar 37,06 $\mu\text{g/mL}$.



Gambar 3. Kurva aktivitas antioksidan kuersetin dan BHT

Uji aktivitas selanjutnya dilakukan terhadap ekstrak metanol, etil asetat, dan air dengan cara yang sama seperti pengukuran di atas, namun pengukuran absorbansi DPPH sebagai absorbansi kontrol tetap dilakukan setiap kali uji aktivitas. Larutan DPPH mudah mengalami reduksi yang ditandai dengan berubahnya warna larutan dari violet menjadi kuning pucat. Hal tersebut menunjukkan bahwa senyawa ini sudah tidak berada pada keadaan radikal (elektron telah berpasangan) (Molyneux, 2004). Harga EC_{50} pada ekstrak metanol, air, dan etil asetat berturut-turut sebesar 351,68 $\mu\text{g/mL}$, 179,91 $\mu\text{g/mL}$, dan 51,02 $\mu\text{g/mL}$. Nilai tersebut diperoleh setelah memasukan persen inhibisi sebesar 50% ke dalam masing-masing persamaan regresi linear pada kurva aktivitas antioksidan seperti yang telah tersaji pada Gambar 4.

Secara keseluruhan aktivitas peredaman antioksidan yang dihasilkan oleh ketiga ekstrak masih berada di bawah kuersetin dan BHT, hal ini dikarenakan ekstrak daun kumis kucing bukan merupakan senyawa murni sehingga diduga masih mengandung senyawa lainnya yang tidak bertindak sebagai antioksidan.



Gambar 4.

Kurva aktivitas antioksidan ekstrak daun kumis kucing

Hasil penelitian menunjukkan bahwa secara umum ketiga ekstrak tanaman ini dapat berperan sebagai antioksidan, meskipun ekstrak metanol memiliki harga EC₅₀ di atas 200 µg/mL. Aktivitas terendah yang dimiliki oleh ekstrak metanol dikarenakan masih terkandungnya senyawa lain yang tidak memiliki aktivitas antioksidan di dalam ekstrak, seperti asam rosmarinat (Akowuah dkk., 2005), sedangkan aktivitas terkuat diperoleh dalam ekstrak etil asetat. Di duga bahwa senyawa-senyawa yang berperan sebagai antioksidan dalam tanaman ini adalah flavonoid bebas yang bersifat semi polar sehingga cenderung berada dalam etil asetat, seperti sinensetin dan Tetra Metil Scutellarein (Akowuah dkk., 2005). Penelitian serupa dilakukan oleh Khamsah dkk. (2006) dimana aktivitas antioksidan ekstrak metanol daun kumis kucing yang tumbuh di Pulau Jawa sebesar 90,21 µg/mL, dengan demikian penelitian ini telah membuktikan bahwa tempat tumbuh merupakan salah satu faktor yang sangat mempengaruhi aktivitas suatu tanaman.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil dari serangkaian analisis, maka diperoleh kesimpulan bahwa total fenolat dan flavonoid serta aktivitas antioksidan paling besar yang terkandung dalam daun kumis kucing yang tumbuh di daerah Bandungan, Kabupaten Semarang, Provinsi Jawa Tengah berada pada ekstrak etil asetat.

DAFTAR PUSTAKA

1. Akowuah, G.A., Ismail, Z., Norhayati, I., dan Sadikun, A., 2005, The Effects of Different Extraction Solvents of Varying Polarities on Polyphenols of *Orthosiphon stamineus* and Evaluation of Free Radical-Scavenging Activity, *Food Chemistry*, 93, 311.
2. Andayani, R., Lisawati, Y., dan Maimunah, 2008, Penentuan Aktivitas Antioksidan, Kadar Fenolat Total dan Likopen pada Buah Tomat (*Solanum lycopersicum L.*), *Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi*, 13, 3-4.
3. Hernani dan Rahardjo, M., 2005, *Tanaman Berkhasiat Antioksidan*, Penebar Swadaya, Jakarta, hlm. 5, 8-10.
4. Khamsah, S.M, Akowah, G., dan Zhari, I., 2006, Antioxidant Activity And Phenolic Content Of *Orthosiphon stamineus* B. From Different Geographical Origin. *Journal of Sustainability Science and Management* 1, 14-20.
5. Matkowski, A., 2008, Antioxidant Activity of Extracts and Different Solvent Fractions of *Glechoma hederacea L.* and *Orthosiphon stamineus* B. Kudo. *Journal of Adv. Clin. Exp. Med.*, 17, 619-622.
6. Mojab, F., Kamalinejad, M., Ghaderi, N., dan Vahidipour, H., 2003, Phytochemical Screening of Some Species of Iranian Plants, *IJPR*, 2, 78.
7. Molyneux, P., 2004, The Use of the Stable Free Radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. *Songklanakar J. Sci. Technol.*, 26, 212-213.
8. Orak, H., 2006, Total Antioxidant Activities, Phenolics, Anthocyanins, Polyphenoloxidase Activities, and It's Correlation of Some Important Red Wine Grape Varieties Which are Grown in Turkey, *EJPAU*, 9, 18.
9. Ramesh, B., dan Satakopan, V., 2010, In Vitro Antioxidant Activities

- of *Ocimum* Species: *Ocimum Sanctum* dan *Ocimum Basilicum*, *Journal of Cell and Tissue Research*, 1, 1-6.
10. Rohman, A., Riyanto, S., dan Utari, D., 2006, Aktivitas Antioksidan, Kandungan Fenolat Total, dan Kandungan Flavonoid Total Ekstrak Etil Asetat Buah Mengkudu serta Fraksi-Fraksinya. *Majalah Farmasi Indonesia*, 17, 137-138.
 11. Shibuya, H., Ohashi, K., dan Kitagawa, I., 1999, Search for Pharmacochemical Leads from Tropical Rainforest Plants. *Pure Appl. Chem.*, 71, 1110.
 12. SNI 01-2891-1992, *Cara Uji Makanan dan Minuman*, butir 5.1, hlm. 5-6.
 13. SNI 01-3709-1995, *Bubuk dan Rempah-Rempah*, hlm. 5.
 14. Sukistiyowati, 2008, *Daftar Obat Alam (DOA)*, GP. Jamu, Semarang, hlm. 39, 45, 61, 70, 120.
 15. Waterhouse, A., 1999, *Folin-Ciocalteau Micro Methode for Total Phenol in Wine*, Departement of Viculture and Enology, University of California, Davis.
 16. Zakaria, Z., Aziz, R., Lachimanan, Y.L., Sreenivasan, S., dan Rathinam, X., 2008, Antioxidant Activity of *Coleus Blumei*, *Orthosiphon stamineus* B., *Ocimum sanctum*, and *Mentha arvensis* from Lamiaceae Family, *IJNES*, 2, 93-94.
-

