

PENENTUAN KADAR TOTAL FENOLIK DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN FRAKSI AIR DAUN PULUTAN (*Urena lobata* L.)

Bagus Kansagis Cahya, Sri Fauziyah, Yudi Purnomo *
Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Malang

ABSTRAK

Pendahuluan : Senyawa radikal bebas berperan terhadap kerusakan oksidatif sel pada penyakit degeneratif. Pemberian antioksidan diperlukan untuk mencegah kerusakan oksidatif. Fraksinasi terhadap ekstrak daun Pulutan menggunakan pelarut air digunakan untuk mengambil senyawa aktif yang bersifat polar seperti flavonoid, fenolik dan saponin yang berpotensi sebagai antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kadar fenolik total dan aktivitas antioksidan pada fraksi air daun Pulutan (*Urena lobata* L.).

Metode : Daun Pulutan di ekstraksi dengan metanol kemudian dilanjutkan fraksinasi menggunakan pelarut air. Hasil fraksinasi dilakukan skrining fitokimia dan uji kuantitatif terhadap kadar total fenol yang terkandung menggunakan metode *Folin-Ciocalteu*. Selanjutnya dilakukan uji bioaktivitas antioksidan terhadap fraksi air daun pulutan dengan menggunakan metode DPPH dan dinilai aktivitas antioksidannya melalui pengukuran IC_{50} .

Hasil : Fraksi air daun Pulutan mengandung senyawa fenolik, flavonoid, saponin dan alkaloid. Kadar total fenol fraksi air daun Pulutan didapatkan hasil 202.88 mg GAE/g. Fraksi air daun Pulutan berpotensi sebagai antioksidan ($IC_{50} = 60.79 \mu\text{g/mL}$) tetapi lebih lemah 25 kali dibanding vitamin C ($IC_{50} = 2.48 \mu\text{g/mL}$).

Simpulan : Fraksi air daun pulutan (*Urena lobata*) memiliki aktivitas antioksidan kuat, dengan kadar fenol total sebesar 202.88 mg GAE/g.

Kata Kunci : pulutan; fraksi air; fenol total; DPPH.

* Korespondensi :

Yudi Purnomo

MT. Haryono 193 Malang, Jawa Timur, Indonesia, 65144

e-mail : y_purnomo92@yahoo.com, telepon: (0341) 558959

TOTAL PHENOLIC DETERMINATION AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF WATER FRACTION PULUTAN LEAVES (*Urena Lobata* L.)

Bagus Kansagis Cahya, Sri Fauziyah, Yudi Purnomo*
Faculty of Medicine, University of Islam Malang

ABSTRACT

Introduction: Free radical play a role in oxidative damage to cells in degenerative diseases. Antioxidants is needed to prevent oxidative damage. Fractionation of Pulutan leaves using water as a solvent was used to extract polar active compounds such as flavonoids, phenolics and saponins which have potential as antioxidants. This study aims to determine the total phenolic content and antioxidant activity in the water fraction of Pulutan (*Urena lobata* L.) leaves.

Method: Pulutan leaves (*Urena lobata* L.) were extracted with methanol then fractionated using water as a solvent. Water fraction Pulutan leaves is performed to phytochemical screening and quantitative tests on the total phenol level by the *Folin-Ciocalteu* method. Furthermore, the antioxidant bioactivity test was carried out using DPPH method and assessed for its antioxidant activity by the IC_{50} value.

Result: Water fraction of Pulutan leaves (*Urena lobata*) indicating the presence of phenolic, flavonoids, saponins and alkaloids compounds. The total phenolic water fraction of Pulutan leaves of 202.88 mg GAE/g. Water fraction of Pulutan leaves has antioxidant activity ($IC_{50} = 60.79 \mu\text{g/mL}$) but is weaker 25 times than vitamin C ($IC_{50} = 2.48 \mu\text{g/mL}$).

Conclusion: Water fraction of Pulutan leaves (*Urena lobata*) has strong category of antioxidant activity with total phenol level of 202.88 mg GAE/g.

Keyword: pulutan; water fraction; total pheno; DPPH.

*Corresponding author:

Yudi Purnomo

MT. Haryono 193 Malang, Jawa Timur, Indonesia, 65144

e-mail : y_purnomo92@yahoo.com, phone: (0341) 558959

PENDAHULUAN

Senyawa radikal bebas berperan terhadap kerusakan oksidatif sel pada penyakit degeneratif. Radikal bebas merupakan molekul elektron yang tidak berpasangan, stabil, dan sangat reaktif.¹ Radikal bebas dapat bersumber dari dalam maupun luar tubuh. Untuk mendapatkan kondisi yang stabil, radikal bebas menarik elektron pada komponen biomedik sel sehingga menyebabkan kerusakan struktur sel seperti pada lipid terjadi peroksidasi lipid, DNA terjadi mutasi DNA, dan oksidasi protein.² Kondisi ini apabila berlangsung lama dan berlebihan akan menimbulkan penyakit degeneratif. Pemberian antioksidan berperan untuk melindungi sel dari serangan radikal bebas pada penyakit degeneratif.^{3,4}

Antioksidan merupakan senyawa yang diperlukan tubuh untuk menghambat kerusakan oksidatif sel. Antioksidan berfungsi untuk meredam dampak negatif dari radikal bebas yang berlebih.⁵ Antioksidan akan mendonorkan elektronnya kepada radikal bebas sehingga dapat menghambat terjadinya kerusakan oksidatif sel.⁶ Secara alamiah, dalam tubuh terdapat antioksidan enzimatis dan nonenzimatis.⁷ Sumber antioksidan bisa didapatkan dari alam seperti tanaman golongan sayuran, buah-buahan dan rempah-rempah.⁸ Pada tanaman banyak terdapat senyawa fenolik yang memiliki khasiat sebagai antioksidan.⁹ Senyawa fenolik terdapat di tumbuhan dan memiliki berbagai macam struktur yang luas seperti flavonoid, fenol monosiklik sederhana, polifenol, fenil propanoid, dan quinon fenolik. Kadar fenol yang tinggi berkorelasi dengan aktivitas antioksidannya.¹⁰

Daun Pulutan (*Urena lobata* L.) merupakan salah satu tanaman yang digunakan untuk pengobatan.¹¹ Pada uji preklinik, daun Pulutan menunjukkan aktivitas antioksidan yang diperankan oleh senyawa flavonoid.¹² Flavonoid merupakan salah satu metabolit sekunder yang terdapat pada tumbuhan dan mengandung gugus fenolik. Fenolik merupakan senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan dan bekerja sebagai scavenger.^{5,13} Pengujian bioaktivitas menggunakan ekstrak daun Pulutan sudah banyak dilaporkan, tetapi uji aktivitas bentuk fraksi daun pulutan belum banyak dilakukan. Fraksinasi merupakan metode pemisahan zat aktif pada herbal menggunakan pelarut organik campuran berdasarkan perbedaan polaritasnya, dengan hasil lebih spesifik dibandingkan bentuk ekstrak kasar. Fraksinasi dengan pelarut air digunakan untuk mengambil senyawa aktif yang bersifat polar seperti flavonoid, fenolik dan saponin yang berpotensi sebagai antioksidan. Berdasarkan uraian tersebut, perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui kadar fenolik total dan aktivitas antioksidan pada fraksi air daun Pulutan (*Urena lobata* L.).

METODOLOGI PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium. Serbuk daun Pulutan (*Urena lobata* L.) didapatkan dari Batu dan telah

dideterminasi oleh Balai Materia Medika Batu dengan nomor surat 074/555A/102.7/2020. Fraksi air daun Pulutan (*Urena lobata* L.) dilakukan skrining fitokimia dan dilanjutkan dengan pengukuran kadar total fenol serta uji aktivitas antioksidan. Penelitian dilakukan pada bulan April-September 2021 di Laboratorium Herbal Materia Medika Batu, Laboratorium Terpadu Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang dan Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran UMM.

Pembuatan Fraksi Daun Pulutan

Serbuk daun Pulutan (*Urena lobata* L.) diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut methanol. Ekstrak kental yang didapatkan dari proses evaporasi dilakukan fraksinasi menggunakan pelarut air yang sebelumnya telah dilakukan fraksinasi bertingkat menggunakan pelarut n-hexane, etil asetat, dan n-butanol secara berurutan. Fase air atau fraksi air dikumpulkan dan disaring menggunakan *vacuum bunchner* dan dioven hingga diperoleh fraksi air daun Pulutan (*Urena lobata* L.) dalam bentuk pasta.

Skrining Fitokimia

Prosedur uji skrining fitokimia fraksi air daun Pulutan (*Urena lobata* L.) mengacu pada metode Harborne (1987) menggunakan reagen khusus sehingga dapat diidentifikasi senyawa yang terkandung didalamnya. Skrining fitokimia pada penelitian ini meliputi pemeriksaan fenolik, flavonoid, saponin, alkaloid, steroid dan terpenoid. Proses pengamatan perubahan pada uji skrining fitokimia dilakukan oleh dua orang pengamat.¹⁴

Penentuan Kadar Total Fenolik

Pengujian kadar total fenolik dilakukan dengan metode spektrofotometri UV-Vis dengan reagen *Folin-Ciocalteu*. 10 mg fraksi air daun Pulutan (*Urena lobata* L.) dilarutkan dalam 10 mL etanol. Larutan kemudian diambil sebanyak 100 µL dalam botol vial dan ditambahkan Na₂CO₃ 7% sebanyak 0,75 mL lalu diinkubasi dalam suhu ruang selama 5 menit. Selanjutnya 0,75 ml reagen *folin-Ciocalteu* ditambahkan dan diinkubasi dalam suhu 45° C selama 15 menit. Absorbansi diukur dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 735 nm. Asam galat digunakan sebagai pembanding dengan variasi konsentrasi antara lain 10-50 µg/mL.¹⁵ Pengujian pada sampel dilakukan sebanyak tiga kali percobaan, perhitungan total fenol dilakukan dengan mensubstitusikan nilai absorbansi sampel kedalam persamaan garis linier standart asam galat, hasilnya dituliskan dengan satuan mg GAE/gram fraksi, dengan rumus perhitungan:

$$C = \frac{a \cdot V / 1000}{G}$$

Keterangan:

- C = Total fenol
a = Konsentrasi asam galat (mg/L)
V = Volume larutan uji (mL)
G = Massa fraksi (g)

Uji Aktivitas Antioksidan

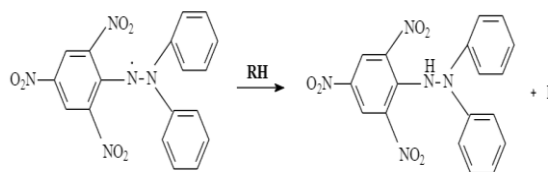
Pengujian aktivitas antioksidan ini mengacu pada penelitian Tristantini, *et al* (2013) dengan sedikit modifikasi. Larutan uji dibuat menggunakan fraksi air daun Pulutan (*Urena lobata* L.) sebanyak 10 mg dengan variasi konsentrasi antara 20-50 µg/mL. Masing-masing larutan uji diambil dan ditambahkan larutan blanko (5 mg DPPH dalam 100 ml metanol) dengan perbandingan 1:1. Kemudian campuran tersebut dihomogenkan lalu diinkubasi ditempat gelap selama 30 menit. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 517 nm. Perlakuan yang sama juga diterapkan pada larutan blanko serta kontrol positif vitamin C dengan konsentrasi 0.7-1.0 µg/mL.

Aktivitas antioksidan dinyatakan dengan persen inhibisi dan nilai *inhibitor concentration of 50%* (IC₅₀). Persen inhibisi dicari menggunakan rumus :

$$\% \text{ Inhibisi} = 1 - \frac{\text{absorbansisampel}}{\text{absorbansi blanko}} \times 100\%$$

Nilai IC₅₀ didapatkan dari persamaan regresi linier. Aktivitas antioksidan dikategorikan menjadi lima berdasarkan nilai IC₅₀. Sangat kuat (IC₅₀ < 50 µg/mL), kuat (IC₅₀ 50-100 µg/mL),

sedang (IC₅₀ 100-150 µg/mL), lemah (IC₅₀ 150-200 µg/mL) dan sangat lemah (IC₅₀ >200µg/mL).



Gambar 1. Cara Kerja DPPH Akseptor

Keterangan : (a) DPPH radikal (berwarna ungu) (b) DPPH stabil (berwarna kuning)

Analisis Data

Analisa statistik yang digunakan adalah analisa statistik deskriptif. Data dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali dan dinyatakan dalam bentuk $\bar{x} \pm SD$. Kemudian perhitungan nilai IC₅₀ dilakukan dengan menggunakan persamaan regresi linier yang yang didapatkan dari kurva linier. Garis X pada kurva menyatakan konsentrasi sampel uji sedangkan garis Y adalah persen inhibisi sampel uji. Adapun persamaan regresi liniernya adalah $y = bx + a$. Perhitungan dilakukan dengan menggunakan *Microsoft Excel 2016 for Windows*.

HASIL PENELITIAN

Skrining Uji Senyawa Fitokimia

Skrining fitokimia fraksi air daun Pulutan (*Urena lobata* L.) mengandung senyawa fenolik, flavonoid, saponin dan alkaloid seperti yang tertera pada **Tabel 1**.

Tabel 1. Hasil Skrining Fitokimia

Uji fitokimia	Pereaksi	Hasil pengamatan	Hasil uji	Pengamat	
				1	2
Fenolik	FeCl ₃	Perubahan warna menjadi kehitaman	+	+	+
Flavonoid	HCl pekat	Perubahan warna menjadi orange	+	+	+
Alkaloid	Mayer	Terbentuk endapan coklat	+	+	+
Saponin	Aquadest	Terbentuk busa stabil	+	+	+
Steroid	Asetat anhidrat + H ₂ SO ₄ pekat	Tidak mengalami perubahan warna mejadi hijau-biru maupun merah-ungu	-	-	-
Triterpenoid	Asetat anhidrat + H ₂ SO ₄ pekat	Tidak mengalami perubahan warna mejadi hijau-biru maupun merah-ungu	-	-	-

Keterangan : (+) mengandung, (-) tidak mengandung

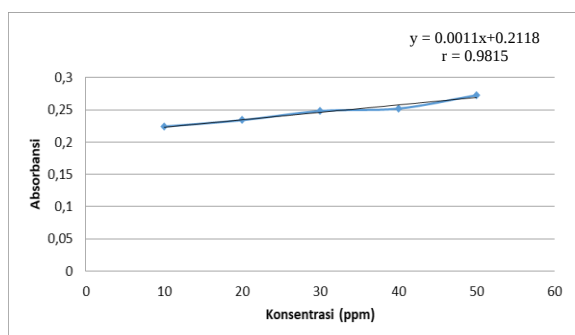
Kadar Total Fenol Fraksi Air Daun Pulutan (*Urena lobata* L.)

Persamaan regresi kurva baku untuk penentuan kadar fenol total dapat dilihat pada **Tabel 2** dan **Gambar 1**.

Tabel 2 Hasil Absorbansi Asam Galat

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbansi
10	0.2241
20	0.2339
30	0.2480
40	0.2517
50	0.2722

Keterangan : Hasil variasi konsentrasi asam galat dan absorbansinya dibuat kurva linier sehingga didapatkan $y = 0.0011x + 0.2118$ dengan $r = 0.9815$.



Gambar 1. Kurva Asam Galat

Hasil pengukuran kadar total fenol dari fraksi air daun Pulutan (*Urena lobata* L.) dapat dilihat pada **Tabel 3**.

Tabel 3. Hasil Perhitungan Kadar Total Fenol

Replikasi	Abs.	Kadar Fenol Total (mg GAE/g)	Rata-rata Kadar Fenol Total ($\bar{x} \pm \text{SD}$)
1	0.4342	202.18	
2	0.4356	203.45	202.88 $\pm$ 0.64*
3	0.4351	203.00	

Keterangan : *Perhitungan dengan ekstrapolasi

Kadar total fenolik pada fraksi air daun Pulutan (*Urena lobata* L.) sebesar 202.88 mgGAE/gram fraksi.

Aktivitas Antioksidan Fraksi Air Daun Pulutan (*Urena lobata* L.)

Bioaktivitas antioksidan fraksi air daun Pulutan (*Urena lobata* L.) dan vitamin C dapat dilihat pada **Tabel 4**.

Tabel 4. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan

Sampel	C ($\mu\text{g/mL}$)	n	% Inhibisi ($\bar{x} \pm \text{SD}$)	IC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)	Kategori
Fraksi air daun Pulutan	20	3	19.44 $\pm$ 0.67	60.79*	Kuat
	30	3	27.99 $\pm$ 1.45		
	40	3	34.51 $\pm$ 1.13		
	50	3	41.88 $\pm$ 1.03		
	0.7	3	7.67 $\pm$ 1.29		
Vitamin C (pembanding)	0.8	3	9.73 $\pm$ 1.56	2.48*	Sangat kuat
	0.9	3	12.39 $\pm$ 0.59		
	1	3	14.75 $\pm$ 1.18		

Keterangan: n: jumlah pengulangan; IC₅₀: Inhibitory Concentration of 50%; SD: Standar Deviasi; (*): perhitungan dengan ekstrapolasi

Aktivitas antioksidan fraksi air daun Pulutan (IC₅₀ = 60.79 $\mu\text{g/mL}$) lebih lemah 25 kali dibandingkan dengan vitamin C (IC₅₀ = 2.48 $\mu\text{g/mL}$) sebagai pembanding.

PEMBAHASAN

Senyawa Aktif Pada Fraksi Air Daun Pulutan (*Urena lobata* L.)

Hasil skrining fitokimia menunjukkan fraksi air daun Pulutan (*Urena lobata* L.) mengandung zat aktif golongan fenolik, flavonoid, saponin dan alkaloid, hal ini terjadi karena penggunaan pelarut air yang bersifat polar dapat mengekstrak senyawa polar diatas. Senyawa flavonoid yang memiliki potensi antioksidan seperti kaemferol, alkaloid seperti papaverine dan saponin seperti alfa-hederin.¹⁸⁻²⁰ Saponin merupakan metabolit sekunder dalam bentuk glikosida yang tersebar luas pada tanaman dan berpotensi sebagai antioksidan, antibakteri dan antivirus.¹⁹⁻²¹ Sementara alkaloid banyak ditemukan pada tanaman dan mengandung atom hidrogen dalam bentuk heterosiklik. Alkaloid memiliki efek farmakologi seperti sebagai antioksidan, antibakteri dan antivirus.^{18,22}

Fenolik merupakan senyawa metabolit sekunder yang banyak ditemukan di tanaman. Berdasarkan strukturnya senyawa memiliki cincin yang berikatan dengan gugus hidroksil yang memiliki variasi dari yang bersifat sederhana sampai kompleks. Berbagai macam senyawa fenolik telah diketahui strukturnya antara lain flavonoid, fenol monosiklik sederhana, polifenol, fenil propanoid dan quinon fenolik. Senyawa fenolik memiliki beberapa efek farmakologi seperti antioksidan, antibakteri dan, antiviral.^{10,23} Fenolik bekerja sebagai antioksidan dengan cara scavenger radikal bebas. Flavonoid yang merupakan senyawa fenolik memiliki potensi antioksidan sama halnya dengan senyawa fenolik.^{24,25}

Flavonoid merupakan salah satu senyawa fenolik dan tergolong dalam metabolit sekunder yang memiliki berbagai macam bioaktivitas, seperti sebagai antioksidan, antialergi dan antitumor.²³ Flavonoid memiliki kerangka karbon yang terdiri dari dua gugus C6 yang disambungkan oleh tiga

karbon dari rantai alifatik.²⁶ Senyawa subclass flavonoid antara lain *flavone*, *isoflavone*, *flavan-3-ol*, *flavanone*, *anthocyanidin* dan *flavonol*.²⁷ Antioksidan flavonoid bekerja dengan cara memungut radikal bebas sehingga dapat membantu menghambat terjadinya kerusakan oksidatif tubuh.^{28,29} Berdasarkan uraian di atas, fraksi air daun *Urena lobata* berpotensi sebagai antioksidan yang dikendalikan oleh empat senyawa metabolit sekunder yaitu fenolik, flavonoid, alkaloid dan saponin. Pada penelitian ini belum dapat mengidentifikasi senyawa tunggal dari kelompok fenolik, flavonoid, alkaloid dan saponin sehingga perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk mengetahui senyawa tunggalnya menggunakan HPLC.

Kadar Total Fenol pada Fraksi Air daun Pulutan (*Urena lobata* L.)

Kadar total fenol pada fraksi air daun Pulutan (*Urena lobata* L.) sebesar 202.88 mgGAE/g. Penelitian ini menggunakan metode *Folin-Ciocalteu* dengan asam galat sebagai standart. Asam galat digunakan karena merupakan senyawa fenolik dan salah satu antioksidan alami yang relatif murah dibandingkan yang lain. Prinsip dasar dari metode ini adalah, *Folin-Ciocalteu* yang digunakan sebagai reagen akan mengoksidasi garam alkali (fenolat) dan asam heteropoli sehingga menjadi suatu kompleks molibdenum-tungsten berwarna biru yang dapat terdeteksi dengan spektrofotometer.³⁰ Secara kualitatif larutan yang telah bereaksi dengan pereaksi akan berubah menjadi warna biru karena proses reduksi asam heteropoli menjadi kompleks molibdenum-tungsten.³¹ Penelitian yang dilakukan oleh Berliansyah *et al* (2021) menunjukan hasil kadar total fenol pada fraksi n-butanol daun Pulutan sebesar 286.54 mgGAE/g, hal tersebut menunjukkan bahwa kadar total fenol pada fraksi air daun Pulutan (*Urena lobata* L.) lebih rendah dibandingkan dengan fraksi n-butanol daun Pulutan.³²

Senyawa fenolik merupakan senyawa metabolit sekunder bioaktif terbesar yang banyak ditemukan ditumbuhan. Ditinjau dari strukturnya, senyawa fenolik merupakan senyawa yang memiliki cincin aromatik dengan satu atau lebih cincin fenol dan memiliki variasi struktur dari molekul sederhana hingga polimer kompleks. Subkelompok senyawa fenolik terbagi menjadi asam fenolat, flavonoid, tanin dan stilben, pembagian ini didasari oleh jumlah gugus fenolik hidroksil yang teraut dan materi struktural yang menghubungkan cincin benzen.²⁵ Gugus hidroksil yang tersubstitusi dengan cincin benzen tersebut berkaitan dengan kemampuan senyawa fenolik saat bereaksi dengan senyawa oksidan.³³ Kemampuan fenolik untuk membentuk radikal fenoksi stabil setelah bereaksi dengan radikal bebas sehingga menjadikan senyawa ini berpotensi sebagai antioksidan karena dapat memutus reaksi berantai.¹³

Kekurangan dalam penelitian ini adalah kurva baku yang digunakan memiliki rentang yang lebih rendah dari absorbansi sampel yang didapatkan

sehingga dilakukan ekstrapolasi untuk perhitungan kadar total fenol. Oleh karena itu penelitian selanjutnya perlu menggunakan kurva baku dengan rentang lebih lebar.

Aktivitas Antioksidan Fraksi Air daun Pulutan (*Urena lobata* L.) dan Vitamin C

Fraksi air daun Pulutan (*Urena lobata* L.) menunjukkan aktivitas antioksidan kategori kuat dengan nilai IC_{50} 60.79 μ g/mL. Efek antioksidan pada fraksi air daun Pulutan (*Urena lobata* L.) diduga dikendalikan oleh senyawa fenolik, flavonoid, saponin dan alkaloid yang terkandung didalamnya. Senyawa antioksidan flavonoid bekerja dengan cara mendonorkan atom hidrogen, menetralkan radikal bebas, meningkatkan ekspresi gen antioksidan enzimatis. Hal ini akan meningkatkan gen yang berperan terhadap sintesis enzim SOD, serta meminimalisir ikatan radikal bebas dengan logam yang akan menghasilkan senyawa oksidan yang lebih reaktif.³⁴ Senyawa fenolik dapat bertindak sebagai antioksidan diduga berkaitan erat dengan atom hidrogen baik jumlah maupun posisinya dalam struktur molekulernya. Fenolik bekerja dengan cara mendonorkan atom hidrogennya sehingga dapat menetralkan ROS yang akan menginisiasi proses reaksi berantai.²⁴ Alkaloid bekerja sebagai antioksidan dengan cara mendonorkan atom hidrogen kepada radikal bebas sedangkan saponin sebagai antioksidan bekerja melalui peningkatan pembentukan SOD dan katalase serta sebagai *scavenger* radikal bebas.^{18,21}

Bioaktivitas antioksidan fraksi air lebih rendah dibandingkan dengan vitamin C (IC_{50} = 2.48 μ g/mL) sebagai pembanding. Salah satu faktor yang menyebabkan perbedaan aktivitas antioksidan ini diduga karena pada fraksi air daun Pulutan (*Urena lobata* L.) terdiri dari berbagai macam senyawa aktif yang rendah konsentrasinya dan memungkinkan adanya interaksi antagonis.³⁵ Sedangkan vitamin C adalah senyawa antioksidan murni, sehingga tidak terjadi interaksi antar komponen. Vitamin C merupakan vitamin tidak larut lemak dan bersifat polar. Penggunaan vitamin C sebagai pembanding pada riset ini dikarenakan vitamin C merupakan antioksidan yang mampu mendonorkan elektron kepada radikal bebas.³⁶ Mekanisme tersebut sama seperti mekanisme kerja senyawa fenolik yang terdapat pada fraksi air daun Pulutan (*Urena lobata* L.). Aktivitas antioksidan pada fraksi air daun pulutan hampir sama dengan fraksi n-butanol dan keduanya masuk dalam kategori kuat (IC_{50} 60.79 μ g/mL vs IC_{50} 68.61 μ g/mL).³²

Pada penelitian ini metode DPPH dipilih karena memiliki beberapa keuntungan seperti pelaksanaan yang cepat dan sederhana.³⁷ Metode DPPH didasarkan dengan terjadinya transfer atom hidrogen dari senyawa antioksidan ke radikal DPPH, sehingga terjadi perubahan pada senyawa radikal DPPH (*diphenylpicrylhydrazyl*) menjadi radikal yang lebih stabil (*diphenylpicrylhydrazine*).³⁸ Ketika terjadi reaksi antara antioksidan dengan reagen DPPH maka akan

terjadi perubahan warna yang semula ungu menjadi kuning, intensitas perubahan tersebut terjadi sesuai dengan aktivitas antioksidan yang terkandung.³⁷

Aktivitas antioksidan fraksi air daun Pulutan (*Urena lobata* L.) dapat dilihat dari nilai IC₅₀ yang didapatkan. IC₅₀ merupakan besar konsentrasi sampel yang dapat meredam 50% radikal DPPH. Aktivitas antioksidan suatu senyawa berbanding terbalik dengan nilai IC₅₀ artinya, makin tinggi aktivitas antioksidan yang terkandung maka nilai IC₅₀nya semakin rendah.³⁹

SIMPULAN

Berdasarkan hasil analisis pada penelitian ini dapat disimpulkan bahwa :

1. Fraksi air daun Pulutan (*Urena lobata* L.) mengandung senyawa fenolik, flavonoid, alkaloid dan saponin.
2. Kadar total fenol pada fraksi air Pulutan (*Urena lobata* L.) diperoleh rerata total fenol sebesar 202.88 mg GAE/g.
3. Fraksi air daun Pulutan (*Urena lobata* L.) memiliki aktivitas antioksidan kuat (IC₅₀ = 60.79 µg/mL), namun lebih lemah dari vitamin C sebagai standar pembandingan (IC₅₀ = 2.48 µg/mL).

SARAN

Berdasarkan pada hasil penelitian, pembahasan dan kesimpulan maka dapat dikemukakan beberapa saran sebagai berikut :

1. Melakukan penelitian lebih lanjut untuk melihat senyawa tunggal yang terkandung pada fraksi air daun Pulutan (*Urena lobata* L.) menggunakan HPLC.
2. Perlu dilakukan pembuatan kurva baku dengan interval yang lebih besar sehingga didapatkan hasil yang lebih valid.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih disampaikan kepada IOM Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang yang telah mendanai penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Phaniendra A, Jestadi DB, Periyasamy L. Free Radicals: Properties, Sources, Targets, and Their Implication in Various Diseases. **Indian J Clin Biochem.** 2015;30(1):11–26.
2. Spahis S, Borys JM, Levy E. Metabolic Syndrome as a Multifaceted Risk Factor for Oxidative Stress. **Antioxidants Redox Signal.** 2017;26(9):445–61.
3. Dhani SR, Yamasari Y. Rancang Bangun Sistem Pakar Untuk Mendiagnosa Penyakit Degeneratif. **Manaj Inform.** 2014;3(2):17–25.
4. Werdhasari A. Peran Antioksidan Bagi Kesehatan. **J Biomedik Medisiana Indones.** 2014;3(2):59–68.
5. Yuslianti ER. Pengantar Radikal Bebas Dan Antioksidan. deepublisher; 2017.
6. Hasanah N. Aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun salam. **J Pena Med.** 2015;(5):1.
7. Sinaga FA. Stress Oksidatif dan Status Antioksidan pada Aktivitas Fisik Maksimal. **J Gener Kamp.** 2016;9(September):176–89.
8. Silvia D, Katharina K, Hartono SA, Anastasia V, Susanto Y. Pengumpulan Data Base Sumber Antioksidan Alami. 2016;1(2):181–98.
9. Zuraida Z, Sulistiyani S, Sajuthi D, Suparto IH. FENOL, FLAVONOID, DAN Aktivitas Antioksidan Pada Ekstrak Kulit Batang Pulai (*Alstonia scholaris* R.Br). **J Penelit Has Hutan.** 2017;35(3):211–9.
10. Tahir M, Muflihunna A, Syafrianti S. Penentuan Kadar Fenolik Total Ekstrak Etanol Daun Nilam (*Pogostemon cablin* Benth.) Dengan Metode Spektrofotometri Uv-Vis. **J Fitofarmaka Indones.** 2017;4(1):215–8.
11. Singh D. *Urena lobata*: A Green Source of Anti-Oxidant. **J Plant Sci.** 2014;2(6):299.
12. Babu SS, Madhuri DB, Ali SL. A pharmacological review of *urena lobata* plant. **Asian J Pharm Clin Res.** 2016;9(2):20–2.
13. Dhurhanian CE, Novianto A. Uji Kandungan Fenolik Total dan Pengaruhnya terhadap Aktivitas Antioksidan dari Berbagai Bentuk Sediaan Sarang Semut (*Myrmecodia pendens*). **J Farm dan Ilmu Kefarmasian Indones.** 2018;5(2):63.
14. Ikalinus R, Widyastuti S, Eka Setiasih N. Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Kulit Batang Kelor (*Moringa Oleifera*). **Indones Med Veterinus.** 2015;4(1):71–9.
15. RI D. Farmakope Herbal Indonesia. II. Jakarta; 2017.
16. Hasanah M, Maharani B, Munarsih E. Daya Antioksidan Ekstrak Dan Fraksi Daun Kopi Robusta (*Coffea Robusta*). **IJPST.** 2017;4(2).
17. Wang J, Fang X, Ge L, Cao F, Zhao L, Wang Z, et al. Antitumor, antioxidant and anti-inflammatory activities of kaempferol and its corresponding glycosides and the enzymatic preparation of kaempferol. **PLoS One.** 2018;13(5):1–12.
18. Chandra R, Aneja R, Rewal C, Konduri R, Dass SK, Agarwal S. An Opium Alkaloid-Papaverine Ameliorates Ethanol-Induced Hepatotoxicity: Diminution Of Oxidative Stress. **Indian J Clin Biochem.** 2000;15(2):155–60.
19. Sudarmi K, Bagus I, Darmayasa G, Muksin IK. uji fitokimia dan daya hambat ekstrak daun juwet (*Syzygium cumini*) Terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli* DAN *Staphylococcus aureus* ATCC. **Simbiosis.** 2017;2(September):47–51.
20. Amoros M, Girre L. Mechanism of Antiviral Activity of Triterpenoid Saponins. **Phyther**

21. **Res.** 1999;328(October 1998):323–8.
22. Smith JC, Nielson KA, Woodart JL, Seidenberg M, Durgerian S, Hazlett KE, et al. Physical activity reduces hippocampal atrophy in elders at genetic risk for Alzheimer's disease. *Front Aging Neurosci.* 2014;6(April):1–7.
23. Cushnie TPT, Cushnie B, Lamb AJ. Alkaloids: An overview of their antibacterial, antibiotic-enhancing and antivirulence activities. *Int J Antimicrob Agents.* 2014;44(5):377–86.
24. Sugiarna R, Farhan N, Rusdi M, Arsul MI. Kadar Fenolik dan Flavonoid Total Ekstrak Etanol Daun Anggur (*Vitis vinifera* L.). **ad-Dawaa' J PharmSci.** 2019;2(2).
25. Foti MC. Chemistry and Biology of Antioxidants Antioxidant properties of phenols. *J Pharm Pharmacol.* 2007;2007(2):1673–85.
26. Diniyah N, Lee SH. Komposisi Senyawa Fenol dan Potensi Antioksidan dari Kacang-Kacangan: Review Phenolic Composition and Antioxidant Potential of Legumes – A Review. *J Agroteknologi.* 2020;14(01):91–102.
27. Arifin B, Ibrahim S. Struktur, Bioaktivitas dan Aktioksidan Flavonoid. *J Zarah.* 2018;6(1):21–9.
28. Nishiumi S, Kawabata K, Mukai R, Terao J. Dietary flavonoids as cancer-preventive and therapeutic biofactors. *Front Biosci - Sch.* 2011;3 S(4):1332–62.
29. Dewi NWOAC, Puspawati NM, Swantara IMD, Asih IARA, Rita WS. Aktivitas Antioksidan Senyawa Flavonoid Ekstrak Etanol Biji Terong Belanda (*Solanum Betaceum*, Syn) Dalam Menghambat Reaksi Peroksidasi Lemak Pada Plasma Darah Tikus Wistar. **Cakra Kim.** 2014;2(1):9–9.
30. Padmawati IAG, Suter IK, Arihantana NMIH. Pengaruh Jenis Pelarut Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Eceng Padi (*Monochoria vaginalis* Burm F. C. Presel.). **J Ilmu dan Teknol Pangan.** 2020;9(1):81–7.
31. Rahayu MP, Inanda LV. Penetapan Kadar Fenol Total Ekstrak Etil Asetat dan Fraksi Dichloromethan-Etil Asetat Kulit Batang Mundu (*Garcinia dulcis*. Kurz). **Biomedika.** 2015;8(22):38.
32. Andriani D, Murtisiwi L. Penetapan Kadar Fenolik Total Ekstrak Etanol Bunga Talang (*Clitoria Ternatea* L.) dengan Spektrofotometri Uv-Vis. **Cendekia J Pharm.** 2018;2(1):36.
33. Berliansyah SZ, Dewi AR, Purnomo Y. Penentuan Kadar Fenol Total dan Aktivitas Antioksidan Fraksi n-Butanol Daun Pulutan (*Urena lobata*). 2021;4.
34. Manongko PS, Sangi MS, Momuat LI. Uji Senyawa Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Tanaman Patah Tulang (*Euphorbia tirucalli* L.). *J Mipa.* 2020;9(2):64–9.
35. Rajesh S, Odintsova E, Muratov G, Baldwin G, Sridhar P, Rajesh S. Binding to Syntenin-1 Protein Defines a New Mode of Ubiquitin-based Interactions Regulated by Phosphorylation. 2011;286(45):39606–14.
36. Constanty IC, Tukiran. Aktivitas Antioksidan Dari Fraksi n-Heksana Kulit Batang Tumbuhan Jambu Semarang (*Syzygium samarangense*). *J Kim Ris.* 2021;6(1):1–7.
37. Caritá AC, Fonseca-Santos B, Shultz JD, Michniak-Kohn B, Chorilli M, Leonardi GR. Vitamin C: One compound, several uses. Advances for delivery, efficiency and stability. *Nanomedicine Nanotechnology, Biol Med.* 2020;24:102117.
38. Ridho E Al. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Buah Lakum (*Cayratia Trifolia*) Dengan Metode Dpph (2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil). 2013
39. Bahriul P, Rahman N, Diah AWM. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Salam (*Syzygium Polyanthum*) Dengan Menggunakan 1,1-Difenil-2- Pikrilhidrazil. **J Akad Kim.** 2014;3(3):368–74.
40. Molyneux P. The Use of the Stable Free Radical Diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. *J Sci Technol.* 2004;26(December 2003):211–9.