

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN KOMBINASI EKSTRAK ETANOL
DAUN BAYAM MERAH (*Amaranthus tricolor* L.) DAN DAUN
KATUK (*Sauropus androgynus* (L.) Merr.) DENGAN
METODE DPPH**

**(ANTIOXIDANT ACTIVITY TEST OF ETHANOL EXTRACT COMBINATIONS RED
SPINACH (*Amaranthus tricolor* L.) AND LEAVES KATUK (*Sauropus androgynus* (L.)
Merr.) WITH DPPH METHOD**

Nur Resky Amelia Usman¹, Endah Dwijayant², Masli Nurcahya Zoraida³

¹Farmasi, Universitas Islam Makassar, Makassar, 90245,

^{2,3}Kimia, Universitas Islam Makassar, Makassar, 90245.

email: nurreskymaeliausman@gmail.com

ABSTRAK

Penelitian uji aktivitas antioksidan kombinasi ekstrak etanol daun bayam merah (*Amaranthus tricolor* L.) dan daun katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr.) telah dilakukan. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui aktivitas antioksidan dan perbandingan optimum kombinasi daun bayam merah dan daun katuk. Metode penelitian ini meliputi ekstraksi secara maserasi menggunakan cairan penyari etanol 70%, skrining fitokimia menggunakan pereaksi spesifik dan uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH. Hasil uji skrining fitokimia ekstrak daun bayam merah dan daun katuk positif mengandung senyawa kimia golongan alkaloid, flavanoid, tanin dan saponin. Uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun bayam merah diperoleh hasil IC₅₀ sebesar 85,958 ppm, dan daun katuk sebesar 55,833 ppm yang di kategorikan sebagai antioksidan kuat, karena berada pada *ran*ge antara 50-100 ppm. Hasil kombinasi ekstrak etanol daun bayam merah dan daun katuk pada perbandingan 15:35 mg; 25:25 mg; dan 35:15 mg masing-masing diperoleh nilai IC₅₀ sebesar 66,211 ppm; 65,261 ppm dan 71,057 ppm yang juga termasuk ke dalam kategori antioksidan kuat, dengan aktivitas antioksidan optimum terdapat pada perbandingan 25:25 mg.

Kata Kunci: Antioksidan; *Amaranthus tricolor* L.; DPPH; Kombinasi; *Sauropus androgynus* (L.) Merr.

ABSTRACT

Research into the antioxidant activity of a combination of ethanol extracts of red spinach leaves (*Amaranthus tricolor* L.) and katuk leaves (*Sauropus androgynus* (L.) Merr.) was carried out. The aim of this research was to determine the antioxidant activity and optimum ratio of the combination of red spinach leaves and katuk leaves. This research method includes extraction by maceration using 70% ethanol filter fluid, phytochemical screening using specific reagents and antioxidant activity testing using the DPPH method. The results of the phytochemical screening test for extracts of red spinach leaves and katuk leaves were positive for containing alkaloid, flavonoid, tannin and saponin chemical compounds. Testing the antioxidant activity of the ethanol extract of red spinach leaves obtained an IC₅₀ result of 85,958 ppm, and katuk leaves of 55,833 ppm which was categorized as a strong antioxidant, because it was in the range between 50-100 ppm. The results of the combination of ethanol extract of red spinach leaves and katuk leaves in a ratio of 15:35 mg; 25:25 mg; and 35:15 mg respectively obtained an IC₅₀ value of 66,211 ppm; 65,261 ppm and 71,057 ppm which are also included in the strong antioxidant category, with optimum antioxidant activity found in the ratio of 25:25 mg.

Keywords: Antioxidant; *Amaranthus tricolor* L.; DPPH; Combination; *Sauropus androgynus* (L.) Merr.

PENDAHULUAN

Radikal bebas adalah salah satu bentuk dari senyawa oksigen reaktif yang memiliki elektron tidak berpasangan. Radikal bebas merupakan salah satu penyebab utama berbagai macam penyakit misalnya arterosklerosis, kanker, jantung koroner dan penuaan dini (Tapan, 2005).

Radikal bebas selalu ada dalam tubuh kita yang terbentuk secara terus menerus, baik berupa proses metabolisme sel normal, peradangan, kekurangan gizi, dan akibat respon terhadap pengaruh dari luar tubuh, seperti polusi lingkungan, ultraviolet (UV), asap rokok dan lain-lain (Winarsi, 2007).

Semakin banyaknya radikal bebas di alam mendorong para peneliti untuk mencari senyawa yang berfungsi sebagai penangkap radikal bebas atau sering disebut sebagai antioksidan. Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat atau mencegah terjadinya oksidasi pada substrat yang mudah teroksidasi dengan cara mendonorkan satu atom protonnya sehingga membuat radikal bebas menjadi stabil dan tidak reaktif (Sayuti, dkk., 2015).

Tanaman merupakan salah satu sumber antioksidan alami, oleh karena itu perlu digali terus menerus penelitiannya untuk mendapatkan sumber antioksidan potensial. Beberapa sumber tanaman yang telah diuji aktivitas antioksidannya adalah daun bayam. Bayam yang ditanam atau di konsumsi umumnya berwarna hijau. Namun, bayam berwarna merah juga mulai banyak di tanam dan dikonsumsi masyarakat (Rachmania & Ashari, 2019).

Bayam merah (*Amaranthus tricolor* L.) mengandung senyawa metabolit sekunder yang dimanfaatkan sebagai obat herbal yaitu flavonoid yang berfungsi sebagai antioksidan alami, serta mengandung vitamin (A, B dan C), mineral (Ca, Mg dan Fe), fitonutrien dan beta-karoten, selain fungsi tersebut daun bayam merah juga digunakan secara turun-temurun untuk melancarkan air susu ibu, penurun tekanan darah, dan penambah darah (Trihardjana, 2007).

Selain bayam merah juga terdapat tanaman lain yang berpotensi sebagai antioksidan yaitu daun katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr.). Daun katuk dapat di manfaatkan untuk pengobatan alami, serta mengandung senyawa flavanoid, alkaloid, steroid, tanin, saponin, protein, kalsium, fosfor, vitamin A, B dan C. Selain itu daun katuk juga berfungsi untuk mengobati demam, borok, bisul dan memperbanyak ASI (Rahmanisa, dkk., 2016).

Antioksidan dapat diuji aktivitasnya dengan berbagai metode 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH), *Cupric Ion Reducing Antioxidant Capacity* (CUPRAC), *Ferric Reducing Antioxidant Power* (FRAP). Metode yang sering digunakan adalah metode DPPH karena metode ini paling sederhana, cepat dan mudah digunakan sehingga dapat memberikan hasil yang akurat serta sensitif terhadap sampel dengan konsentrasi yang kecil namun pengujian menggunakan DPPH hanya dapat dilarutkan dalam pelarut organik sehingga agak sulit untuk menganalisis senyawa yang bersifat hidrofilik (Karadag, 2009).

Penelitian terhadap aktivitas antioksidan dari ekstrak tunggal daun bayam merah yang dilakukan oleh Buhang, dkk (2020) di dapatkan hasil antioksidan dengan nilai IC_{50} 51,404 $\mu\text{g/mL}$ dan dikategorikan sebagai antoksidan kuat, sedangkan penelitian yang dilakukan Hartanto & Sutriningsih (2018) pada dari ekstrak tunggal daun katuk di dapatkan hasil nilai IC_{50} 797,083 $\mu\text{g/mL}$ dan di kategorikan antioksidan sangat lemah.

Kombinasi ekstrak yang dilakukan diharapkan dapat meningkatkan aktivitas antioksidan, sehingga didapatkan aktivitas antioksidan yang potensial, seperti penelitian yang telah dilakukan oleh Dwijayanti, dkk., (2023) dengan mengkombinasikan Ekstrak Daun Kelor dan Daun Kemangi menggunakan Metode DPPH, sebelum dikombinasikan daun kelor memiliki nilai IC_{50} sebesar 69,447 ppm yang dikategorikan sebagai antioksidan kuat dan daun Kemangi memiliki nilai sebesar 34,655 ppm dikategorikan sangat kuat, sedangkan setelah di kombinasikan terjadi kenaikan aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} 42,696 ppm yang di kategorikan sangat kuat.

Berdasarkan latar belakang di atas maka akan dilakukan skrining fitokimia, penelitian aktivitas antioksidan kombinasi ekstrak etanol daun bayam merah (*Amaranthus tricolor* L.) dan daun katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr.) yaitu untuk mengetahui kandungan kimia ekstrak daun bayam merah dan daun katuk dan antioksidan serta perbandingan optimum kombinasi daun bayam merah (*Amaranthus tricolor* L.) dan daun katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr.) menggunakan metode DPPH.

METODE PENELITIAN

A. Alat dan Bahan yang Digunakan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat-alat yang umum digunakan di laboratorium kimia, bejana maserasi, rotary evaporator, spektrofotometri UV-Vis (Thermo), stopwatch dan timbangan analitik.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun bayam merah (*Amaranthus tricolor* L.), daun katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr.), aquades, asam askorbat, DPPH, etanol 70 %, metanol p.a, aluminium foil dan kertas saring.

B. Prosedur Kerja

1. Ekstraksi Daun Bayam Merah dan Daun Katuk (Dwijayanti, dkk., 2023).

Serbuk simplisia daun bayam merah dan daun katuk ditimbang masing-masing sebanyak 200 g di masukkan ke dalam bejana maserasi. Lalu ditambahkan 2 L etanol 70 % ke dalam masing-masing bejana maserasi untuk membasahkan, diamkan beberapa menit hingga terbasahi semua, ditambahkan kembali 2 L etanol 70 %, biarkan selama 3×24 jam dilakukan pengadukan sesekali. Selanjutnya masing – masing ekstrak disaring dengan menggunakan kertas saring, diperoleh filtrat dan ampas. Filtrat kemudian disimpan sedangkan ampasnya diremaserasi kembali menggunakan pelarut yang sama sebanyak 2 kali. Filtrat yang diperoleh kemudian dikumpulkan dan diuapkan dengan rotary evaporator hingga diperoleh ekstrak kental, di timbang dan di hitung rendemennya

2. Skrining Fitokimia (Kristanti, dkk., 2008).

a. Uji Alkaloid

Sebanyak 0,1 g masing-masing ekstrak daun bayam dan daun katuk dilarutkan dengan kloroform beramonia di dalam tabung reaksi, kemudian di kocok lalu disaring. Setelah itu, ditambahkan 1 mL asam sulfat 2 N ke dalam filtrat dan kocok sampai terbentuk 2 lapisan. Lapisan yang terletak pada bagian atas (asam) dipipet dan di masukkan ke dalam tabung reaksi lalu ditambahkan 3 tetes pereaksi Dragendorff jika terbentuk endapan jingga menunjukkan adanya alkaloid.

b. Uji Flavonoid

Sebanyak 0,1 g masing-masing ekstrak daun bayam dan daun katuk dilarutkan terlebih dahulu dengan 2 mL etanol Kemudian, di kocok hingga homogen, lalu ditambahkan serbuk Mg dan 5 tetes HCl pekat sebanyak 1mL ke dalam tabung reaksi. Bila terbentuk warna merah, kuning atau jingga ini menunjukkan adanya flavonoid.

c. Uji Saponin

Sebanyak 0,1 g masing-masing ekstrak daun bayam dan daun katuk di larutkan terlebih dahulu dengan air hangat. Setelah tu, dimasukkan sedikit ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 10 mL air, setelah itu di dinginkan dan di kocok secara kuat sehingga terbentuk buih. Jika buih setinggi 1 cm menunjukkan adanya saponin.

d. Uji Tanin

Sebanyak 0,1 g masing-masing ekstrak daun bayam dan daun katuk dilarutkan terlebih dahulu dengan 2mL air lalu diaduk dan tambahkan 3 tetes FeCl₃. Terbentuknya warna hijau kehitaman atau biru tua menunjukkan adanya tanin.

3. Uji Aktivitas Antioksidan (Brand-Williams, dkk., 1995)

a. Pembuatan Larutan Induk DPPH

Larutan DPPH 0,4 mM dibuat dengan cara menimbang DPPH sebanyak 0,0157 g dilarutkan dalam labu tentukur 100 mL menggunakan metanol p.a, dicukupkan volumenya hingga tanda batas.

b. Pembuatan dan Pengukuran Larutan DPPH Pada Panjang Gelombang Maksimum

Larutan DPPH 0,4 mM dipipet sebanyak 2 mL dan dimasukkan ke dalam labu tentukur 10 mL yang dibungkus aluminium foil dan tambahkan metanol p.a hingga tanda batas. Kocok hingga homogen dan diamkan selama 30 menit. selanjutnya diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 505 nm diperoleh nilai absorbansi tertinggi yang ditetapkan sebagai panjang gelombang maksimum.

c. Pengukuran Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Bayam Merah dan Ekstrak Daun Katuk dengan Metode DPPH (Buhang, dkk., 2020).

1) Pengukuran Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Bayam Merah

Ekstrak daun bayam merah sebanyak 50 mg dilarutkan dengan 50 mL metanol sehingga diperoleh larutan stok 1000 ppm lalu dipipet masing-masing 0,2 mL; 0,4 mL; 0,6 mL; 0,8 mL; 1 mL dimasukkan ke dalam labu tentukur 5 mL yang dibungkus dengan aluminium foil, lalu ditambahkan 2 mL larutan DPPH 0,4 mM dan dicukupkan volumenya dengan metanol p.a hingga tanda batas dan diperoleh konsentrasi 20 ppm; 40 ppm; 60 ppm; 80 ppm dan 100 ppm. Campuran dihomogenkan kemudian ditutup dan didiamkan selama 30 menit, selanjutnya absorbansinya diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 505 nm.

2) Pengukuran Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun katuk

Pengujian aktivitas ekstrak daun katuk sebanyak 50 mg dilarutkan dengan 50 mL metanol, sehingga diperoleh larutan stok 1000 ppm lalu dipipet masing-masing 0,2 mL; 0,4 mL; 0,6 mL; 0,8 mL; 1 mL dimasukkan kedalam tentukur 10 mL yang dibungkus dengan aluminium foil, lalu ditambahkan 2 mL larutan DPPH 0,4 mM dan dicukupkan volumenya dengan metanol p.a hingga tanda batas dan diperoleh konsentrasi 20 ppm; 40 ppm; 60 ppm; 80 ppm dan 100 ppm. Campuran dihomogenkan kemudian ditutup dan didiamkan selama 30 menit, selanjutnya absorbansinya diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 505 nm.

d. Pengukuran Aktivitas Antioksidan Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Bayam Merah dan Daun Katuk dengan Perbandingan (Dwijayanti, dkk., 2023).

Ekstrak kental daun bayam merah dan daun katuk ditimbang dan dicampurkan dengan perbandingan 15:35, 25:25, 35:15 mg lalu masing-masing dilarutkan dengan 50 mL methanol sehingga diperoleh larutan stok 1000 ppm lalu dipipet masing-masing 0,2 mL; 0,4 mL; 0,6 mL; 0,8 mL; 1 mL dimasukkan ke dalam labu tentukur 10 mL yang dibungkus aluminium foil, lalu ditambahkan 2 mL larutan DPPH 0,4 mM dan dicukupkan volumenya dengan methanol p.a hingga tanda batas dan diperoleh konsentrasi 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm dan 100 ppm. Campuran dihomogenkan kemudian ditutup dan didiamkan selama 30 menit, selanjutnya diukur absorbannya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 505 nm.

e. Pembuatan Larutan Induk Asam askorbat konsentrasi 1000 ppm (Hartanto & Sutriningsih, 2018)

Asam askorbat ditimbang sebanyak 10 mg kemudian dilarutkan dengan metanol p.a dalam gelas kimia sambil dihomogenkan, lalu dimasukkan ke dalam labu tentukur 10 mL, dicukupkan volumenya dengan metanol p.a hingga tanda batas. Larutan induk 1000 ppm kemudian diencerkan menjadi 100 ppm dengan cara memipet larutan induk 1000 ppm sebanyak 1 mL dan dimasukkan ke dalam labu tentukur 10 mL lalu dicukupkan volumenya dengan metanol p.a hingga tanda batas.

f. Pengukuran Aktivitas Antioksidan Larutan Pembanding Asam Askorbat (Hartanto & Sutriningsih, 2018)

Pengujian dilakukan dengan memipet larutan stok asam askorbat masing-masing 0,025 mL; 0,05 mL; 0,1 mL, 0,2 mL, dan 0,4 mL kemudian ditambahkan 2 mL DPPH 0,4 mM dan dimasukkan kedalam labu tentukur yang telah dibungkus dengan aluminium foil dan dicukupkan volumenya hingga 10 mL dengan pelarut methanol p.a sehingga diperoleh konsentrasi larutan pembanding asam askorbat berturut-turut 0,25 ppm, 0,5 ppm, 1 ppm, 2 ppm dan 4 ppm. Campuran dihomogenkan kemudian ditutup dan didiamkan selama 30 menit, selanjutnya diukur absorbannya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 505 nm.

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. HASIL PENGAMATAN

1. Skrining Fitokimia Daun Bayam merah dan Daun Katuk

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah daun bayam merah (*Amaranthus tricolor* L.) dan daun katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr.) masing-masing sampel dilakukan skrining fitokimia untuk memberikan gambaran tentang golongan senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam tanaman yang diteliti. Metode skrining fitokimia dilakukan dengan pengujian warna dengan menggunakan suatu pereaksi.

Tabel 1. Hasil Perhitungan Rendamen Ekstrak Etanol Daun Bayam Merah (*Amaranthus tricolor* L.) dan Daun Katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr.)

Sampel	Berat Sampel (g)	Berat Ekstrak (g)	& Rendamen
Daun Bayam Merah	200	22,81	11,40
Daun Katuk	200	22,33	11,16

Tabel 2. Hasil Identifikasi Senyawa Kimia Ekstrak Etanol Daun Bayam Merah (*Amaranthus tricolor* L.)

Kandungan Kimia	Pereaksi Kimia	Pengamatan	Kesimpulan	Sumber
Alkaloid	Dragendorff	Endapan Jingga	+	Shevla,1990
Flavonoid	Serbuk Mg dan HCl p	Kuning	+	Robinson,1995
Tanin	FeCl ₃ 1%	Hijau Kehitaman	+	Harbone,1987
Saponin	Air Panas	Berbusa	+	Daud,dkk.,2021

Keterangan: + = Adanya kandungan senyawa
- = Tidak adanya kandungan senyawa

Tabel 3. Hasil Identifikasi Senyawa Kimia Ekstrak Etanol Daun Katuk (*sauropus androgynus* (L.) Merr.)

Kandungan Kimia	Pereaksi Kimia	Pengamatan	Kesimpulan	Sumber
Alkaloid	Dragendorff	Endapan Jingga	+	Shevla,1990
Flavonoid	Serbuk Mg dan HCl p	Kuning	+	Robinson,1995
Tanin	FeCl ₃ 1%	Hijau Kehitaman	+	Harbone,1987
Saponin	Air Panas	Berbusa	+	Daud,dkk.,2021

Keterangan: + = Adanya kandungan senyawa
- = Tidak adanya kandungan senyawa

2. Pengukuran Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Bayam Merah dan Daun Katuk dengan Metode DPPH

Pengujian Aktivitas Antioksidan ekstrak daun etanol daun bayam merah dan daun katuk dilakukan dengan berbagai konsentrasi 20ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm, dan 100 ppm. Hasil pengukuran ekstrak etanol daun bayam merah diukur absobansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 505 nm (Tabel 6 dan 9).

Tabel 4. Hasil Pengukuran Absorbansi Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Bayam Merah (*Amaranthus tricolor* L.)

Sampel	Absorbansi $\lambda = 505 \text{ nm}$			
	Konsentrasi	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3
Kontrol	-	0,490	0,490	0,490
	20	0,434	0,446	0,443
Ekstrak Daun Bayam Merah	40	0,387	0,397	0,398
	60	0,315	0,328	0,333
	80	0,266	0,290	0,288
	100	0,190	0,190	0,180

Tabel 5. Hasil Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Bayam Merah (*Amaranthus tricolor* L.)

Aktivitas antioksidan (%)			Regresi linear		
Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3
11,428	8,979	9,592			
21,020	18,979	18,776	y=0.6214x -	y=0.6316x -	y=0.649x -
35,714	33,061	32,041	2.2662	5.2867	5.9587
45,714	40,816	41,225	R ² = 0.994	R ² = 0.9787	R ² = 0.9711
61,225	61,225	63,265			

Tabel 6. Hasil Rata-rata Aktivitas Antioksidan dan nilai IC₅₀ ekstrak Daun Bayam Merah

Pengujian	Nilai IC ₅₀ (ppm)	Rata-rata ± SD (ppm)
Replikasi 1	84,110	
Replikasi 2	87,534	85,958 ± 1,728
Replikasi 3	86,229	

Tabel 7. Hasil Pengukuran Absorbansi Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Katuk (*Sauropus androgynus* (L) Merr.)

Sampel	Absorbansi λ = 505 nm			
	Konsentrasi	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3
Kontrol	-	0,476	0,476	0,476
	20	0,336	0,340	0,364
Ekstrak Daun Katuk	40	0,285	0,288	0,292
	60	0,204	0,205	0,207
	80	0,159	0,162	0,163
	100	0,127	0,137	0,129

Tabel 8. Hasil Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Katuk(*Sauropus androgynus* (L) Merr.)

Aktivitas antioksidan (%)			Regresi linear		
Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3
29,412	28,571	23,529			
40,126	39,496	38,655	y=0,5714x +	y=0,5588X +	y=0,6292x +
57,143	56,933	56,513	19,034	19,908	13,718
66,597	65,966	65,756	R ² = 0,9772	R ² = 0,966	R ² = 0,9694
73,319	71,218	72,899			

Tabel 9. Hasil rata-rata nilai IC₅₀ Ekstrak Etanol Daun Katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr.)

Pengujian	Nilai IC ₅₀ (ppm)	Rata-rata ± SD (ppm)
Replikasi 1	54,193	
Replikasi 2	55,641	55,833 ± 1,743
Replikasi 3	57,664	

3. pengukuran Aktivitas Antioksidan Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Bayam Merah dan Daun Katuk dengan perbandingan 15:35 mg; 25:25 mg; dan 35:15 mg.

Pengujian aktivitas antioksidan kombinasi ekstrak etanol daun bayam merah dan daun katuk dilakukan dengan berbagai perbandingan yaitu kombinasi 15:35 mg (Tabel 12), 25:25 mg (Tabel 15), dan 35:15 mg (tabel 18) dengan konsentrasi 20 ppm, 20 ppm, 60 ppm 80 ppm dan 100 ppm. Pengujian ekstrak kombinasi selanjutnya diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 505 nm.

Tabel 10. Hasil Pengukuran Absorbansi Aktivitas Antioksidan Kombinasi Ekstrak Etanol daun Bayam Merah (*Amaranthus tricolor* L.) dan Daun Katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr.) dengan perbandingan 15:35 mg.

Sampel	Absorbansi $\lambda = 505 \text{ nm}$			
	Konsentrasi	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3
Kontrol	-	0,476	0,476	0,476
	20	0,335	0,338	0,336
Kombinasi	40	0,295	0,297	0,295
Daun Katuk	60	0,259	0,262	0,260
15:35 mg	80	0,223	0,230	0,236
	100	0,136	0,133	0,140

Tabel 11. Hasil Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kombinasi (15:35)

Aktivitas antioksidan (%)			Regresi linear		
Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3
29,621	28,992	29,412			
38,025	37,605	38,025	$y = 0,4937x +$	$y = 0,5011x +$	$y = 0,4737x +$
45,588	44,958	45,378	17,941	16,996	18,341
53,151	51,681	50,420	$R^2 = 0,9581$	$R^2 = 0,9415$	$R^2 = 0,9348$
71,428	72,059	70,588			

Tabel 12. Hasil rata-rata nilai IC₅₀ kombinasi Ekstrak Etanol Daun Bayam Merah (*Amaranthus tricolor* L.) dan Daun Katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr.) dengan Perbandingan (15:35)

Pengujian	Nilai IC ₅₀ (ppm)	Rata-rata \pm SD (ppm)
Replikasi 1	64,936	
Replikasi 2	66,863	66,211 \pm 1,103
Replikasi 3	66,833	

Tabel 13. Hasil Pengukuran Absorbansi Aktivitas Antioksidan Kombinasi Ekstrak Etanol daun Bayam Merah (*Amaranthus tricolor* L.) dan Daun Katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr.) dengan perbandingan 25:25 mg.

Sampel	Absorbansi $\lambda = 505 \text{ nm}$			
	Konsentrasi	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3
Kontrol	-	0,476	0,476	0,476
	20	0,335	0,338	0,336
Kombinasi	40	0,295	0,297	0,295
Daun Katuk	60	0,259	0,262	0,260
15:35 mg	80	0,223	0,230	0,236
	100	0,136	0,133	0,140

Tabel 14. Hasil Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kombinasi (25:25)

Aktivitas antioksidan (%)			Regresi linear		
Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3
9,034	9,664	9,034			
21,429	21,639	21,638	$y = 0,9779x -$	$y = 0,9664x -$	$y = 0,9706x -$
43,487	42,857	45,588	13,844	13,235	13,151
65,336	64,916	64,496	$R^2 = 0,9924$	$R^2 = 0,9913$	$R^2 = 0,9935$
84,874	84,664	84,664			

Tabel 15. Hasil rata-rata nilai IC₅₀ kombinasi Ekstrak Etanol Daun Bayam Merah (*Amaranthus tricolor* L.) dan Daun Katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr.) dengan Perbandingan (25:25)

Pengujian	Nilai IC ₅₀ (ppm)	Rata-rata ± SD (ppm)
Replikasi 1	65,287	
Replikasi 2	65,434	65,261 ± 0,186
Replikasi 3	65,064	

Tabel 16. Hasil Pengukuran Absorbansi Aktivitas Antioksidan Kombinasi Ekstrak Etanol daun Bayam Merah (*Amaranthus tricolor* L.) dan Daun Katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr.) dengan perbandingan 35:15 mg.

Sampel	Absorbansi $\lambda = 505 \text{ nm}$			
	Konsentrasi	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3
Kontrol	-	0,476	0,476	0,476
	20	0,335	0,338	0,336
Kombinasi Daun Katuk	40	0,295	0,297	0,295
	60	0,259	0,262	0,260
15:35 mg	80	0,223	0,230	0,236
	100	0,136	0,133	0,140

Tabel 17. Hasil Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kombinasi (35:15)

Aktivitas antioksidan (%)			Regresi linear		
Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3
7,143	28,571	23,529			
22,899	39,496	38,655	$y = 0,8414x -$	$y = 0,8655x -$	$y = 0,8466x -$
36,345	56,933	56,513	10,525	12,017	8,9079
61,344	65,966	65,756	$R^2 = 0,9871$	$R^2 = 0,9698$	$R^2 = 0,9689$
72,059	71,218	72,899			

Tabel 18. Hasil rata-rata nilai IC₅₀ kombinasi Ekstrak Etanol Daun Bayam Merah (*Amaranthus tricolor* L.) dan Daun Katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr.) dengan Perbandingan (35:15)

Pengujian	Nilai IC ₅₀ (ppm)	Rata-rata ± SD (ppm)
Replikasi 1	71,934	
Replikasi 2	71,655	71,057 ± 1,285
Replikasi 3	69,581	

B. Pembahasan

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah daun bayam merah (*Amaranthus tricolor* L.) dan daun katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr.) yang diperoleh dari Desa Padangalla, Kabupaten Maros. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengidentifikasi golongan senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada ekstrak etanol daun bayam merah dan daun katuk serta uji aktivitas antioksidan dan perbandingan optimum dari kombinasi ekstrak daun bayam merah dan daun katuk dengan menggunakan metode DPPH.

Skrining fitokimia dilakukan dengan tujuan untuk memberikan gambaran tentang golongan senyawa yang terkandung dalam tanaman yang diteliti. Metode skrining fitokimia dilakukan pengujian warna dengan menggunakan suatu pereaksi. Senyawa-senyawa tersebut dapat diidentifikasi dengan pereaksi-pereaksi yang mampu memberikan ciri khas dari setiap golongan metabolit sekunder (Karbonat, 1987).

Data yang diperoleh dari hasil identifikasi golongan senyawa, menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun bayam merah dan daun katuk positif mengandung senyawa alkaloid, flavanoid, tanin, dan saponin, dengan menggunakan pereaksi yang spesifik terhadap pengujian (Tabel 3 dan Tabel 4).

Identifikasi senyawa alkaloid dilakukan dengan menggunakan pereaksi Dragendorff. Pada pereaksi Dragendorff hasil yang didapatkan terbentuk endapan jingga. Hal ini sesuai dengan teori yang dijelaskan oleh Shevla (1990), bahwa pereaksi Dragendorff menghasilkan endapan jingga, coklat muda sampai kuning karena adanya ion K⁺ dari kalium tetraiodobismutat menghasilkan kalium alkaloid.

Identifikasi selanjutnya yaitu senyawa flavonoid didapatkan hasil senyawa berwarna jingga dengan menambah serbuk Mg dan HCl pekat pada sampel. Pada penambahan HCl pekat untuk menghidrolisis flavonoid menjadi aglikonnya, yaitu dengan menghidrolisis O-glikosil. Glikosil akan tergantikan oleh H⁺ dari asam karena sifatnya yang elektrofilik. Reduksi tersebut akan menghasilkan senyawa kompleks berwarna merah atau jingga (Robinson, 1995).

Identifikasi senyawa tanin terbentuknya warna hijau kehitaman pada sampel setelah ditambahkan FeCl₃. Perubahan warna terjadi karena pembentukan senyawa kompleks antara tanin dengan ion Fe³⁺ (Harbone, 1987).

Identifikasi selanjutnya uji saponin. Uji saponin merupakan senyawa yang mempunyai gugus hidrofilik dan hidrofob. Saponin pada saat di gojok akan terbentuk buih karena adanya gugus hidrofil yang berkaitan dengan air, sedangkan hidrofob akan berikatan dengan udara. Dalam analisis uji saponin sampel memiliki kemampuan untuk berbusa. Busa yang dihasilkan pada pada uji skrining bersifat stabil. Stabilitasnya busa karena adanya glikosida yang dapat membentuk busa dalam air yang terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lainnya.

Aktivitas antioksidan dapat dipengaruhi oleh kandungan senyawa aktif didalam ekstrak yaitu senyawa flavonoid. Flavonoid akan mendonorkan elektronnya kepada radikal bebas untuk menstabilkan senyawa radikal, sehingga semakin tinggi kandungan flavonoid dalam ekstrak, maka aktivitas antioksidannya akan semakin tinggi.

Metode 1,1- difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) merupakan salah satu pengujian aktivitas antioksidan dalam menangkap radikal bebas. DPPH memberikan serapan yang kuat pada panjang gelombang 505 nm dan berwarna ungu. Penangkapan radikal bebas menyebabkan elektron menjadi berpasangan yang kemudian menyebabkan penghilang warna yang sebanding dengan jumlah elektron yang diambil. Metode DPPH merupakan metode yang paling sederhana, mudah, cepat dan peka (Molyneux, 2004).

Hasil pengujian tunggal aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun bayam merah (*Amaranthus tricolor* L.) memiliki nilai IC_{50} 85,958 ppm (Tabel 6) dan ekstrak etanol daun katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr.) memiliki IC_{50} 55,833 ppm (Tabel 9) masing-masing dikategorikan sebagai antioksidan kuat, karena memiliki nilai IC_{50} 50 – 100 ppm (Tabel 1). Hasil ini menunjukkan bahwa pada daun bayam merah memiliki kategori antioksidan kuat dan sesuai dengan penelitian sebelumnya yaitu penelitian Buhang, dkk (2020) dengan nilai IC_{50} 51,404 ppm, hal ini berbeda dengan penelitian pada daun katuk karena berdasarkan penelitian Hartanto & Sutriningsih (2018) menunjukkan daun katuk yang berasal dari Sumatera memiliki nilai IC_{50} 797,083 dikategorikan sebagai antioksidan sangat lemah, akan tetapi penelitian (Zuhra, dkk., 2008) pada daerah Jakarta dikategorikan sebagai antioksidan kuat dengan nilai IC_{50} 80,81. Perbedaan tersebut dapat diakibatkan oleh beberapa faktor diantaranya perbedaan tempat tumbuh, cahaya, suhu dan pH.

Pengujian selanjutnya dari hasil tunggal dilakukan kombinasi ekstrak daun bayam merah dan daun katuk dengan tujuan mendapatkan perbandingan optimum agar di dapatkan hasil aktivitas antioksidan terbaik. Akan tetapi pada hasil pengujian aktivitas antioksidan tunggal memiliki kesamaan sebagai antioksidan kuat, sehingga tidak saling mempengaruhi. Hal ini dibuktikan pada saat di kombinasikan, kombinasi terbaik terdapat pada perbandingan yang sama yaitu perbandingan 25:25 mg dan merupakan perbandingan optimum dengan nilai IC_{50} 65,261 ppm (Tabel 15) dibandingkan pada perbandingan lainnya yaitu 15:35 mg dan 35:15 mg dengan masing-masing nilai IC_{50} 66,211 ppm dan 71,057 ppm (Tabel 12 dan Tabel 18).

Data IC_{50} tersebut menunjukkan aktivitas antioksidan ketiga perbandingan kombinasi tetap termasuk pada kategori antioksidan kuat. Akan tetapi berbeda halnya dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Ghozaly & Herdiyanti, (2020) dari kombinasi tanaman daun katuk dengan tanaman yang berbeda yaitu daun kersen dikategorikan sebagai antioksidan lemah. Perbedaan ini dimungkinkan karena perbedaan jenis tanaman yang mempengaruhi kadar senyawa kimia di dalamnya karena beberapa faktor seperti jenis tanaman dan tempat tumbuh, sehingga hasil pada penelitian ini yaitu kombinasi daun bayam merah dan daun katuk menunjukkan bahwa daun bayam merah dapat di konsumsi secara bersamaan dengan daun katuk karena memiliki manfaat sebagai antioksidan dan dikategori sebagai antioksidan kuat.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun bayam merah dan daun katuk positif mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, saponin dan tanin.

Aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun bayam merah (*Amaranthus tricolor* L.) memiliki nilai IC_{50} 85,958 ppm dan daun katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr.) dengan nilai IC_{50} 55,833 ppm yang dikategorikan sebagai antioksidan kuat.

Aktivitas antioksidan kombinasi ekstrak etanol daun bayam merah dan daun katuk dengan perbandingan 15:35 mg; 25:25 mg dan 35:15 mg di peroleh nilai IC_{50} 66,211 ppm; 65,261 ppm dan 71,057 ppm masing-masing yang dikategorikan sebagai antioksidan kuat, dengan perbandingan optimum terdapat pada perbandingan 25:25 mg yang memiliki nilai IC_{50} sebesar 65,261 ppm.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada seluruh yang telah terlibat pada penelitian penulis semoga Allah SWT selalu merahmati semuanya, terkhusus kepada keluarga tercinta.

DAFTAR PUSTAKA

- Buhang, N. A. O., Nuryanti, S., & Walanda, D. K. (2020). *Antioxidant Activity Test of Red Spinach's Extract (Blitum rubrum) in Ethanol Solvent and Water Solvent with DPPH*. *Jurnal Akademika Kimia*, 8(3), 153–159.
- Brand-Williams, W. Cuvelier, M. and Berset, C. (1995). *Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity*. *Lebensmittel-Wissens-chaft- und-Technologie*. 28:25-30.
- Dwijayanti, E., Zoraida, M. N., & Kurnianingsih, R. (2023). *Stannum : Jurnal Sains dan Terapan Kimia Antioxidant Activity Testing Combination of Moringa Leaf (Moringa oleifera L .) and Bambian (Ocimum sanctum L .) Leaves Extract Using DPPH Method Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Kelor (Moringa oleifera L .*
- Ghozaly, M. R., & Herdiyanti, E. (2020). *Uji aktivitas Antioksidan Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Kersen (Mutingia calabura L.) dan Daun Katuk (Sauropus androgynus (L.) Merr.) dengan Metode DPPH (1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil)*. *Archives Pharmacia*, 2(2), 82–91.
- Harborne, J.B., (1987). *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*, 49-51, Bandung, ITB Press.
- Karadag, A., B, Ozcelik. & S, Saner. (2009). *Review of Methods to Determine Antioxidant Capacities*. *Food Analytical Methods*. Vol. 2 No. 1.
- Molyneux, P. (2004). *The Use of the Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity*. *Songklanakarin J. Sci. Technol* 26 (2): 214-215.
- Rahmanisa & Soraya. (2016). *Efektivitas Ekstraksi Alkaloid dan Sterol Daun Katuk (Sauropus androgynous) Terhadap Produksi ASI*. *Majority*. Vol 5 (1). 117- 12
- Robinson, T. (1995). *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*, terjemahan Padmawinata, K., Penerbit ITB, Bandung.
- Sayuti, K.; Rina Yenrina. (2015). *Antioksidan Alami dan Sintetik*; Andalas Univesity Press. Padang

Svehla, G .(1990). Buku Teks Analisis Alami dan Sintetik. *Asion journal of pharmaceutical sciences*.
Andalas University press.

Tapan, E. (2005). Kanker, Antioksidan dan Terapi Komplementer. Gramedia. Jakarta. Hal 104.

Winarsi, H. (2007). Antioksidan Alami dan Radikal Bebas. Kanisius. Yogyakarta. 2007. Hal 15-20.

.