

Analisis Kualitatif Senyawa Metabolit Sekunder Dan Uji Qualitative Analysis of Secondary Metabolite Compounds and Antioxidant Activity Test of Ethanol Extract of Dandang Gendis (*Clinacanthus nutans* Burm.f.) Leaves from Kaledupa, Southeast Sulawesi Using the DPPH Method

Veny Yulandari¹Burhanuddin Taebe² Rachmin Munadi³.

^{1,3} Fakultas Farmasi, Universitas Almarisa Madani

²Program Studi Farmasi, Fakultas MIPA, Universitas Islam Makassar

Corresponding Author

rachmin.munadi@gmail.com

ABSTRACT

Research on qualitative analysis of secondary metabolite compounds and antioxidant activity testing of the ethanol extract of dandang gendis (*Clinacanthus nutans* Burm. f.) leaves from Kaledupa, Southeast Sulawesi using the DPPH method has been carried out. This study aims to determine the secondary metabolite content and antioxidant activity of the ethanol extract of dandang gendis leaves using the DPPH method. The research methods carried out included extraction by immersion in 70% ethanol solvent then analysis of secondary metabolite compounds and antioxidant activity testing using the DPPH method. The phytochemical screening results were positive for containing secondary metabolite compounds, namely alkaloids, flavonoids, terpenoids and saponins. Antioxidant activity against DPPH radicals can be analyzed using a visible spectrophotometer at a wavelength of 505 nm. The results of the analysis showed that the antioxidant activity of the ethanol extract of dandang gendis leaves was very weak with an IC₅₀ value of 514.013 µg/mL and for ascorbic acid which was used as a comparison, an IC₅₀ value of 2.077 ± 0.048 µg/mL was obtained. The antioxidant activity of the ethanol extract of dandang gendis leaves is 0.004 times that of ascorbic acid.

Key words: Antioxidants, Dandang Gendis, Secondary Metabolites.

PENDAHULUAN

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi oksidasi dengan cara mengikat radikal bebas yang sangat reaktif sehingga dapat menghambat kerusakan sel dalam tubuh. Antioksidan merupakan senyawa yang bersifat inhibitor, yaitu dapat menghambat dan mencegah interaksi antara radikal bebas dan molekul targetnya (Erlindawati, 2018).

Radikal bebas adalah molekul yang mengandung satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada orbital terluar. Elektron yang tidak berpasangan dengan mudah menarik elektron dari molekul lain sehingga menyebabkan ketidakstabilan radikal bebas. Radikal bebas biasanya terbentuk ketika komponen makanan yang diubah menjadi energi melalui metabolisme target utama. Untuk mencapai kestabilan atom atau molekul radikal bebas akan bereaksi dengan molekul disekitarnya untuk memperoleh pasangan elektron (Irianti Tanti T et al., 2017).

Penelitian sebelumnya telah dilakukan dari tanaman dandang gendis (*Clinacanthus nutans* Burm. f.) terbukti memiliki aktivitas antioksidan karena kandungan flavonoidnya. Aktivitas antioksidan Ekstrak etanol daun dandang gendis yang difraksinasi dengan n-heksan, etil asetat dan air menunjukkan bahwa daun dandang gendis berpotensi sebagai antioksidan dengan nilai IC₅₀ sebesar 532,24 ppm untuk fraksi air dan nilai IC₅₀ fraksi etil asetat sebesar 1895,48 ppm (Nugraheni et al., 2017).

Perbedaan utama antara penelitian ini dengan penelitian sebelumnya adalah lokasi pengambilan sampelnya yang berbeda memungkinkan terjadinya perbedaan kadar senyawa aktifnya. Faktor yang dapat mempengaruhi kandungan suatu sampel yaitu intensitas cahaya, suhu, kelembaban, pH, kandungan unsur hara, ketinggian tempat akan mempengaruhi kandungan kadar metabolit sekunder tumbuhan ((Alim et al., 2022) Katuuk et al., 2012).

Berdasarkan uraian tersebut, maka rumusan masalah penelitian ini yaitu apakah ekstrak etanol daun dandang gendis (*Clinacanthus nutans* Burm. f.) asal Kaledupa Sulawesi Tenggara memiliki kandungan metabolit sekunder dan aktivitas antioksidan. Tujuan Penelitian Ini yaitu untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder dan aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun dandang gendis asal Kaledupa Sulawesi Tenggara dengan metode DPPH. Manfaat yang diharapkan dari penelitian ini adalah untuk menambah data ilmiah tentang kandungan metabolit sekunder dan aktivitas antioksidan daun dandang gendis asal Kaledupa Sulawesi Tenggara.

METODE PELAKSANAAN

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April sampai Juli 2023 di Laboratorium Farmakognosi-Fitokimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Makassar dan Laboratorium Analisis Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Makassar.

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan adalah ayakan, pengaduk, pengering, Erlenmeyer, gelas kimia (pyrex), kuvet, labu takar (pyrex), mikropipet (pyrex), pipet, neraca analitik, rotary evaporator, spektrofotometer UV-Vis, timbangan digital, tabung reaksi dan wadah maserasi. Bahan-bahan yang digunakan yaitu aluminium foil, asam klorida (HCl), asam sulfat (H₂SO₄), Asam askorbat, aquadest, daun dandang gendis (*Clinacanthus nutans* Burm.f.), *diphenyl pikrilhidrazyl* (DPPH), etanol 70 %, kertas saring, metanol p.a, pereaksi dragendroff, pereaksi mayer, pereaksi Lieberman Burchard, dan Serbuk Mg.

Pengambilan Sampel

Sampel penelitian yang digunakan berupa daun dandang gendis (*Clinacanthus nutans* Burm.f.) diperoleh dari Kecamatan Kaledupa Selatan, Kabupaten Wakatobi Provinsi Sulawesi Tenggara. Titik koordinat desa Langge yaitu 5°32'50"S 123°48'3"E

Pengolahan Sampel

Sampel daun dandang gendis yang telah dikumpulkan, dicuci bersih dengan air mengalir, ditimbang dan dipotong kecil-kecil. Kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan selama 14 hari tanpa sinar matahari langsung. Sampel kering dihaluskan menggunakan blender kemudian diayak menggunakan ayakan no.40 (Hasanuddin et al., 2021).

Pembuatan Ekstrak

Daun simplisia dandang gendis ditimbang sebanyak 150 gram, kemudian dimasukkan ke dalam wadah maserasi. Tambahkan 1500 ml etanol 70% untuk membasahkan, diamkan beberapa menit hingga terbasahi. Proses selanjutnya ditambahkan etanol 70 % sebanyak 500 mL, sehingga cairan penyari merendam sampel kurang lebih setinggi 2 cm di atas permukaan sampel, biarkan selama 3x24 jam dalam bejana tertutup dan terlindungi dari cahaya dan dilakukan pengadukan sekali-kali, selanjutnya disaring dengan menggunakan kertas saring, diperoleh ekstrak cair dan ampas diremaserasi dengan jumlah pelarut yang sama dan direndam selama 2x24 jam. Hasil remaserasi disaring, lalu ekstrak cair dikumpulkan kemudian menguapkan pelarut dengan rotavapor hingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak disimpan dalam desikator sampai kering, kemudian air rendaman ditimbang dan dihitung.

Uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH

Pembuatan Larutan Induk Baku DPPH 0,4 mM

Larutan DPPH 0,4 mM dibuat dengan menimbang 0,0157 g DPPH dan melarutkannya dalam sedikit metanol p.a. dalam gelas kimia. Kemudian dimasukkan ke dalam labu takar 100 ml yang telah diberi metanol p.a volumenya ditambah hingga tanda batas.

Pengukuran Panjang Gelombang Maksimum

Larutan DPPH konsentrasi 0,4 mM dipipet sebanyak 1 ml dan dimasukkan ke dalam labu ukur, kemudian volume tersebut diisi dengan metanol pa. hingga 5 ml, kocok hingga homogen. Botol ukur dibungkus dengan aluminium foil dan didiamkan selama 30 menit, setelah itu diukur serapannya dengan spektrofotometer visibel pada panjang gelombang 400-800 nm. Absorbansi maksimum ditentukan sebagai panjang gelombang maksimum pada 505 nm.

Pembuatan Larutan Stok Ekstrak Daun Dandang Gendis 5000 ppm

Ekstrak daun dandang gendis ditimbang sebanyak 50 mg ditambahkan dengan metanol p.a dalam gelas kimia sambil dihomogenkan lalu dimasukkan ke dalam labu tentukur 10 mL, dicukupkan volumenya sampai tanda batas.

Analisis Kualitatif Senyawa Metabolit Sekunder

Flavanoid

25 mg ekstrak daun dandang gendis dilarutkan dengan 2 mL metanol p.a kemudian ditambahkan 0,2 mg Serbuk Mg dan ditambahkan 3 tetes HCl pekat jika terjadi perubahan menjadi warna kuning, menunjukkan adanya kandungan flavonoid.

Alkaloid

25 mg ekstrak daun dandang gendis dilarutkan dengan 2 mL metanol p.a kemudian ekstrak ditambah dengan 3 tetes pereaksi Dragendorff, Jika terjadi perubahan warna jingga maka positif mengandung alkaloid. Selanjutnya pengujian menggunakan pereaksi mayer diambil sebanyak 2 mg tambahkan 3 tetes HCl pekat dan 5 tetes reagen Mayer ke dalam ekstrak. Jika terbentuk endapan putih, maka positif adanya alkaloid.

Terpenoid

25 mg ekstrak daun dandang gendis dilarutkan dengan 2 mL metanol p.a kemudian, ditambahkan dengan 1 tetes H₂SO₄ pekat, Kemudian ditambahkan 3 tetes pereaksi Lieberman Burchard, Jika terjadi perubahan warna merah atau kuning kecokelatan maka positif mengandung terpenoid.

Saponin

25 mg ekstrak daun dandang gendis dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan aquades hingga seluruh sampel terendam, dipanaskan selama 2-3 menit, selanjutnya didinginkan, kemudian dikocok kuat-kuat. Apabila terbentuk buih yang stabil maka positif mengandung saponin.

Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Dandang Gendis

Uji aktivitas antioksidan ekstrak daun Dandang gendis dilakukan dengan memipet 1 mL larutan stok 5000 ppm; 1,2ml; 1,4ml, 1,6ml, dan 1,8ml, kemudian dimasukkan ke dalam labu takar yang dibungkus alumunium foil dan ditambahkan 1ml DPPH 0,4mM dan ditepatkan hingga 10ml dengan metanol untuk mendapatkan konsentrasi 500ppm, 600ppm. 700 ppm, 800 ppm, dan 900 ppm. Campuran dihomogenisasi, ditutup dan didiamkan selama 30 menit. Kemudian diukur serapannya dengan spektrofotometer visibel pada 505 nm.

Pembuatan Larutan Pembanding Asam Askorbat 1000 ppm

Larutan asam askorbat 1000 ppm dibuat dengan menimbang 10 mg asam askorbat dan melarutkannya dengan metanol masing-masing dalam labu ukur 10 mL selama homogenisasi, dicukupkan volumenya hingga tanda menggunakan metanol p.a. Larutan asam askorbat 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 hingga tanda batas.

Uji Aktivitas Antioksidan Larutan Perbandingan Asam Askorbat

Pengujian aktivitas antioksidan asam askorbat dilakukan dengan memipet larutan stok yang mengandung asam askorbat 100 ppm dalam 0,0125 mL; 0,025m: 0,05ml; 0,1ml dan 0,2ml. Kemudian ditambahkan 1 mL DPPH 0,4 mM dan dimasukkan ke dalam labu takar yang dibungkus alumunium foil, dan disesuaikan volumenya dengan metanol sehingga diperoleh larutan acuan asam askorbat dengan konsentrasi 0,25 ppm, 0,50 ppm, hingga volume 5. ml. 1 ppm, 2 ppm dan 4 ppm. Campuran dihomogenisasi, ditutup dan didiamkan selama 30 menit, kemudian diukur serapannya dengan spektrofotometer visibel pada 505 nm.

Analisis Data

Persamaan regresi linier digunakan dalam analisis data. Persentase penangkal radikal bebas dihitung menggunakan rumus berikut:

$$\text{Perendaman radikal bebas (\%)} = \frac{A_b - A_s}{A_b} \times 100 \%$$

Keterangan :

A_b = Absorbansi larutan DPPH dalam metanol

A_s = Absorbansi larutan DPPH setelah bereaksi dengan sampel

HASIL DAN PEMBAHASAN

Metode DPPH digunakan karena memiliki beberapa kelebihan antara lain metode yang cepat, sederhana, dan tidak membutuhkan biaya tinggi untuk penapisan aktivitas penangkap radikal bebas. Metode ini terbukti akurat dan praktis dalam menentukan kemampuan antioksidan menggunakan radikal bebas. DPPH merupakan senyawa radikal bebas yang stabil dan berwarna ungu kehitaman (Devitria et al., 2020).

Simplisia daun dandang diekstraksi dengan cara direndam dengan pelarut etanol 70% sehingga diperoleh persentase ekstrak yang direndam (Tabel 1).

Tabel 1. Hasil Perhitungan Rendamen Dandang gendis

Sampel	Simplisia (g)	Bobot Ekstrak (g)	Rendamen Ekstrak (% b/b)
Daun Dandang Gendis	150	45,5	5,26

Skrining fitokimia dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa kimia yang terdapat pada ekstrak daun dandang gendis (*Clinacanthus nutans* Burm.f.). Hasil skrining fitokimia yang telah dilakukan pada table 2 menunjukkan bahwa ekstrak etanol positif mengandung senyawa metabolit sekunder antara lain flavonoid, alkaloid, terpenoid dan

saponin.

Tabel 2. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Dandang Gendis

Uji Fitokimia	Reagen	Hasil Uji	Keterangan
Alkaloid	Dragendorff	+	Ada
	Mayer	+	Ada
Flavonoid	Serbuk Mg	+	Ada
Saponin	HCl	+	Ada
Terpenoid	Lieberman Burchard	+	Ada

Hasil penelitian aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun dandang gendis diperoleh IC_{50} sebesar $514,013 \pm 5,088 \mu\text{g/mL}$ pada table 3 yaitu:

Tabel 3. Hasil Rata-rata Nilai IC_{50} Ekstrak Etanol Daun Dandang Gendis

Pengujian	Nilai IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	Rata-rata \pm SD ($\mu\text{g/mL}$)
Simplo	510,609	
Duplo	511,570	$514,013 \pm 5,088$
Triplo	519,862	

Hasil penelitian aktivitas antioksidan asam askorbat diperoleh IC_{50} sebesar $2,077 \pm 0.048 \mu\text{g/mL}$ pada table 4 yaitu:

Tabel 4. Hasil Rata-rata Nilai IC_{50} Pembanding Asam Asorbat

Pengujian	Nilai IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	Rata-rata \pm SD ($\mu\text{g/mL}$)
Simplo	2,024	
Duplo	2,109	$2,077 \pm 0.048$
Triplo	2,088	

Hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun dandang gendis (*Clinacanthus nutans* Burm. f.) asal Kaledupa Sulawesi Tenggara dengan metode DPPH diperoleh nilai IC_{50} sebesar $514,013 \mu\text{g/mL}$ dikategorikan sangat lemah. Sejalan dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh (Nugraheni et al., 2017) menunjukkan bahwa ekstrak daun dandang gendis asal Temu Kuncoro-Semarang memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} sebesar $532,24 \mu\text{g/mL}$ dikategorikan sangat lemah. Hal ini dapat disebabkan oleh beberapa faktor yaitu sumber benih tanaman, iklim, habitat tumbuhan dan metode penanaman sehingga mempengaruhi kandungan senyawa tanaman tersebut, faktor-faktor lain yang dapat mempengaruhi antara lain konsentrasi senyawa

aktif, metode ekstraksi, kondisi pertumbuhan, pengolahan dan penyimpanan, metode pengadukan dan variasi genetik (Mintowati Kuntorini et al., 2010)

Asam askorbat merupakan senyawa antioksidan alami yang sering digunakan sebagai senyawa pembanding dalam pengujian aktivitas antioksidan, karena senyawa antioksidan alami relatif aman dan tidak menimbulkan toksisitas (Kang Sing Lung & Pramita Destiani, 2017)

Berdasarkan nilai IC_{50} ekstrak etanol daun dandang gendis dibandingkan nilai IC_{50} asam askorbat yang diperoleh pada penelitian ini menunjukkan aktivitas antioksidannya 0,004 kali lipat dari asam askorbat.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun dandang gendis (*Clinacanthus nutans* Burm.f.) asal Kaledupa Sulawesi Tenggara positif mengandung senyawa metabolit sekunder yaitu alkaloid, flavonoid, terpenoid dan saponin, juga memiliki aktivitas antioksidan sangat lemah dengan nilai IC_{50} sebesar 514,013 $\mu\text{g/mL}$ dan pada asam askorbat yang digunakan sebagai pembanding diperoleh nilai IC_{50} sebesar $2,077 \pm 0,048 \mu\text{g/mL}$. Kemampuan aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun dandang gendis yaitu 0,004 kali dibanding asam askorbat.

DAFTAR PUSTAKA

- Devitria, R., Sepriyani, H., & Sari, S. (2020). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Daun Ciplukan Menggunakan Metode 2,2-Diphenyl 1-Picrilhidrazyl (Dpph). *Jurnal Penelitian Farmasi Indonesia*, 9(1), 31–36.
- Erlidawati & Safrida, 2018. *Potensi antioksidan sebagai antidiabetes*. Syiah Kuala University Press. Banda Aceh.
- Irianti Tanti T, Sugiyanto, Nuranto Sindu, & Kuswandi. (2017). Antioksidan. *E-Book*, Yogyakarta, 1–171.
- Kang Sing Lung, J., & Pramita Destiani, D. (2017). *Review Artikel Uji Aktivitas Antioksidan Vitamin A, C, E Dengan Metode Dpph*.
- Katuuk, R. H. H., Wanget, S. A., & Tumewu, P. (2012). *The Effect Of Differences In Site Height On The Content Of Secondary Metabolites Of Babadotan Weeds (Ageratum Conyzoides L.)*.
- Mintowati Kuntorini, E., Dewi Astuti, M., & Hartanto Nugroho, Dan L. (2010). *Struktur Anatomi Dan Aktivitas Antioksidan Bulbus Bawang Dayak (Eleutherine Americana Merr.) Dari Daerah Kalimantan Selatan*.
- Nugraheni, B., Anggraeny, N., & Cahyani, M. (2017). *Penentuan Kadar Flavanoid Total*

Pada Ekstrak Daun Dandang Gendis (Clinacanthus Nutans L.) Segar Dan Kering Serta Aktivitas Antioksidannya Determination Of Total Flavanoid Levels On Fresh And Dry Dandang Gendis Leaves (Clinacanthus Nutans L.) And Its Antioxidant Activity.

- Alim, N., Hasan, T., Rusman, R., Jasmiadi, J., & Zulfitri, Z. (2022). Phytochemical Screening, Relationship of Total Phenolic with Antioxidant Activity Of Ethanol and Methanol Extracts of Kesambi (Schleichera oleosa (Lour.) Oken) Bark. *Jurnal Ilmiah Sains*, 22(2), 118. <https://doi.org/10.35799/jis.v22i2.40091>
- Hasanuddin, R., Jasmiadi, J., & Abdillah, N. (2021). The Analysis of the Chlorogenic Acid in the Ethanol Fraction of Robusta Coffee Beans and Its Effect on Glucose Levels in Wistar Rats. *Disease Prevention and Public Health Journal*, 15(2), 118. <https://doi.org/10.12928/dpphj.v15i2.4705>