

AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL, ETIL ASETAT, DAN *n*-HEKSAN DARI DAUN SESEWANUA (*Clerodendron squamatum* Vahl.)

Yosina M. Huliselan¹⁾, Max R.J. Runtuwene²⁾, Defny S. Wewengkang¹⁾

¹⁾Program Studi Farmasi Fakultas MIPA UNSRAT Manado

²⁾Jurusan Kimia FMIPA UNSRAT Manado

ABSTRACT

Sesewanua (*Clerodendron squamatum* Vahl.) empirically has been used by people in several areas in North Sulawesi to treat fever, fractures, and reducing swelling. Sesewanua leaves contains flavonoids and alkaloids that can be potentially as an antioxidant. The purpose of this study was to determine the total phenolic content and antioxidant activity of the ethanol, ethyl acetate and *n*-hexane extracts from the leaves of sesewanua. The extraction of sesewanua leaves is using the maceration method. Determination of total phenolic contents use the Folin Ciocalteu method and testing of antioxidant activity using the 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) method. Based on the results obtained, the highest total phenolic content ethyl acetate extract of 36.25 mg/L, followed by ethanol extract of 14.659 mg/L, and the *n*-hexane extract of 5.795 mg/L. Based on the calculation of the IC₅₀, ethyl acetate extract has the highest antioxidant activity (13.084 mg/L), followed by ethanol extract (17.85 mg/L), and *n*-hexane extracts (23.737 mg/L).

Keywords: Leaves of Sesewanua (*Clerodendron squamatum* Vahl.), Total phenolic, Antioxidant, DPPH

ABSTRAK

Sesewanua (*Clerodendron squamatum* Vahl.) secara empiris telah digunakan oleh masyarakat di beberapa daerah di Sulawesi Utara untuk mengobati demam, patah tulang, dan penurunan bengkak. Daun sesewanua mengandung flavonoid dan alkaloid yang dapat berpotensi sebagai antioksidan. Tujuan penelitian ini adalah untuk menentukan kandungan total fenolik dan aktivitas antioksidan ekstrak etanol, etil asetat, dan *n*-heksan dari daun sesewanua. Ekstraksi daun sesewanua dilakukan dengan menggunakan metode maserasi. Penentuan kandungan total fenolik menggunakan metode Folin Ciocalteu dan pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH). Berdasarkan hasil yang diperoleh ekstrak etil asetat memiliki kandungan total fenolik tertinggi sebesar 36,25 mg/L, diikuti ekstrak etanol sebesar 14,659 mg/L, dan ekstrak *n*-heksan sebesar 5,795 mg/L. Berdasarkan hasil perhitungan IC₅₀ ekstrak etil asetat daun sesewanua memiliki aktivitas antioksidan tertinggi dengan nilai IC₅₀ sebesar 13,084 mg/L, diikuti ekstrak etanol sebesar 17,85 mg/L, dan ekstrak *n*-heksan sebesar 23,737 mg/L.

Kata kunci: Sesewanua (*Clerodendron squamatum* Vahl.), Total Fenolik, Antioksidan, DPPH.

PENDAHULUAN

Radikal bebas merupakan molekul yang tidak stabil dan sangat reaktif karena mengandung satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada orbit terluarnya. Untuk mencapai kestabilan, radikal bebas akan bereaksi dengan molekul disekitarnya untuk memperoleh pasangan elektron. Reaksi ini akan berlangsung terus menerus dalam tubuh dan apabila tidak dihentikan akan menimbulkan berbagai penyakit seperti penuaan dini, kanker, lever serta penyakit degeneratif lainnya. Karena sangat reaktif, radikal bebas sangat mudah menyerang sel-sel sehat di dalam tubuh, oleh karena itu tubuh memerlukan pertahanan untuk menetralkan radikal bebas tersebut (Hernani dan Raharjo, 2005).

Antioksidan dapat menetralkan radikal bebas dengan cara mendonorkan satu atom protonnya sehingga membuat radikal bebas stabil dan tidak reaktif (Singh, 2004). Terdapat sistem enzim dalam tubuh manusia misalnya enzim superoksida dismutase yang dapat berfungsi sebagai antioksidan, namun jika jumlah radikal bebas lebih banyak daripada enzim yang terdapat dalam tubuh maka tubuh perlu tambahan antioksidan dari luar. Berdasarkan sumbernya antioksidan terbagi menjadi dua jenis, yaitu antioksidan buatan dan antioksidan alami (Meenakshi *et al.*, 2009).

Antioksidan buatan seperti asam benzoat, Butil Hidroksi Anisol (BHA), Butil Hidroksi Toluen (BHT) dan Tert-Butil Hidroksi Quinon (TBHQ) dapat menimbulkan efek samping pada kesehatan tubuh. BHA dan BHT telah diteliti dapat menimbulkan tumor pada hewan uji jika digunakan dalam jangka waktu yang lama dan juga dapat menimbulkan kerusakan hati jika dikonsumsi secara berlebihan (Andarwulan *et al.*, 1996). Efek samping yang ditimbulkan oleh penggunaan antioksidan buatan mendorong perkembangan penelitian terhadap antioksidan alami yang lebih aman dan lebih mampu dalam mengurangi radikal bebas dalam tubuh. Antioksidan alami dapat

diperoleh dari tumbuh-tumbuhan atau buah-buahan (Ukieyanna, 2012).

Tumbuhan mengandung metabolit sekunder yang dapat berpotensi sebagai antioksidan, diantaranya adalah alkaloid, flavonoid, senyawa fenol, steroid, dan terpenoid (Marliana, 2007). Senyawa antioksidan dari tumbuhan dapat diperoleh dengan cara ekstraksi menggunakan pelarut. Perbedaan polaritas dari pelarut menghasilkan perbedaan jumlah dan jenis senyawa metabolit sekunder yang didapat (Fajarullah, 2014).

Sesewanua (*Clerodendron squamatum* Vahl.) secara empiris telah digunakan oleh masyarakat di beberapa daerah di Sulawesi Utara untuk mengobati berbagai macam penyakit seperti demam, patah tulang, dan penurunan bengkak. Menurut Moot *et al.* (2013) senyawa yang diduga bersifat sebagai antipiretik dalam infusa daun sesewanua adalah flavonoid. Selain itu menurut Sangi *et al.* (2008) daun sesewanua dianalisis mengandung alkaloid dan flavonoid.

Kandungan metabolit sekunder pada daun sesewanua seperti flavonoid dan alkaloid yang dapat berpotensi sebagai antioksidan serta perbedaan polaritas pelarut yang dapat menghasilkan perbedaan jumlah dan jenis metabolit sekunder yang didapat mendorong penulis untuk meneliti aktivitas antioksidan ekstrak etanol, etil asetat, dan *n*-heksan dari daun sesewanua.

METODOLOGI PENELITIAN

Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya: pisau, blender, timbangan (*A&D company limited*), ayakan 60 Mesh, sudip, alat-alat gelas (*pyrex*), kertas aluminium, kertas saring, cawan porselen, oven (*memmerf*), pipet tetes, mikro pipet, rotari evaporator (*eyla N-1000*), penangas air, vortex, spektrofotometer UV-VIS (*Shimadzu 1800*).

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya: daun sesewanua yang diambil dari daerah Malayang, etanol, etil asetat, *n*-heksana, metanol, besi (III) klorida 5%, besi (III) klorida 1%, asam klorida pekat, asam klorida 2 N, serbuk magnesium, asam sulfat 2 N, asam sulfat pekat, natrium hidroksida 10%, pereaksi wagner, air, asam asetat, dietil eter, reagen *Folin-Ciocalteu*, natrium karbonat 7,5%, kristal *1,1 difenil-2-pikrilhidrazil* (DPPH).

Pengambilan Sampel

Sampel diambil dari daerah Malayang, Manado. Bahan yang digunakan adalah bagian daun sesewanua.

Identifikasi Tanaman

Identifikasi tanaman dilakukan di Laboratorium Taksonomi Tumbuhan, Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sam Ratulangi Manado.

Preparasi Sampel

Daun sesewanua dicuci pada air kran yang mengalir untuk menghilangkan kotoran yang menempel, dikeringanginkan, dirajang menjadi potongan yang kecil-kecil, dikeringanginkan kembali diudara terbuka. Setelah kering daun sesewanua dihaluskan dengan blender sehingga berbentuk serbuk kemudian diayak dengan ayakan.

Uji Kadar Air (Modifikasi AOAC, 1999)

Cawan porselen dikeringkan dalam oven pada suhu 40°C. Setelah dingin berat cawan ditimbang, sampel daun sesewanua ditimbang sebanyak 2 g dan dimasukkan ke dalam cawan. Cawan yang berisi sampel dimasukkan ke dalam oven pada suhu 40°C selama 3 jam. Setelah didinginkan cawan berisi sampel ditimbang kembali. Kadar air dihitung dengan persamaan :

$$\% \text{ Kadar air} = \frac{\text{berat awal} - \text{berat akhir}}{\text{berat sampel}} \times 100\%$$

Ekstraksi

Ekstraksi daun sesewanua dilakukan dengan cara maserasi menggunakan pelarut etanol, etil asetat, dan *n*-heksan. Ditimbang sebanyak 200 g simplisia daun sesewanua lalu ditambahkan pelarut 800 mL hingga simplisia terendam seluruhnya. Ekstraksi dilakukan selama 3x24 jam terlindung dari cahaya dan dilakukan pengadukan setiap 24 jam. Pada hari ke 2 dan ke 3 pelarut disaring untuk dilakukan remaserasi sehingga diperoleh 3 filtrat untuk setiap pelarut. Filtrat kemudian dievaporasi dengan rotari evaporator sehingga diperoleh ekstrak kental etanol, etil asetat, dan *n*-heksan dari daun sesewanua.

Skrining Fitokimia (Harborne, 1996)

Sebanyak 2 g serbuk daun sesewanua dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian diekstraksi dengan pelarut metanol sebanyak 10 mL. Setelah sampel mengendap, sampel disaring dengan menggunakan kertas saring dan filtrat yang diperoleh dipindahkan ke tabung reaksi yang lain untuk dilakukan pengujian fitokimia.

Uji Fenolik

Sebanyak 1 mL ekstrak metanol sampel daun sesewanua dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan FeCl₃ 5% sebanyak 2-3 tetes. Sampel yang mengandung fenolik akan mengalami perubahan warna menjadi biru kehitaman.

Uji Flavonoid

• Uji Flavonoid dengan HCl Pekat dan Logam Magnesium

Sebanyak 1 mL ekstrak metanol sampel daun sesewanua dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan HCl pekat sebanyak 2 tetes dan dikocok kuat. Setelah itu ditambahkan serbuk magnesium (Mg) dan dikocok kuat. Sampel positif mengandung flavonoid bila terdapat buih dengan intensitas yang banyak dan larutan akan mengalami perubahan warna menjadi warna jingga.

- **Uji Flavonoid dengan H₂SO₄**

Sebanyak 1 mL ekstrak metanol sampel daun sesewanua dimasukkan kedalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan H₂SO₄ 2 N sebanyak 2 tetes dan dikocok kuat. Sampel positif mengandung flavonoid bila larutan mengalami perubahan warna yang sangat mencolok menjadi warna kuning, merah, atau coklat.

- **Uji Flavonoid dengan NaOH 10%**

Sebanyak 1 mL ekstrak metanol sampel daun sesewanua dimasukkan kedalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan NaOH 10% sebanyak 2 tetes dan dikocok kuat. Sampel positif mengandung flavonoid bila terdapat warna yang sangat mencolok, yaitu warna kuning, merah, coklat, atau hijau.

Uji Alkaloid

Sebanyak 1 mL ekstrak metanol sampel daun sesewanua ditambahkan 10 tetes H₂SO₄ 2 N dan dikocok kuat. Kemudian ditambahkan reagen Wagner. Sampel kemudian diamati. Hasil positif bila penambahan reagen Wagner menghasilkan endapan kecoklatan.

Uji Lieberman Burchard (Uji Terpen dan Steroid)

Ekstrak metanol daun sesewanua diteteskan pada plat tetes pada 3 titik (titik pertama untuk standar dan dua titik lainnya untuk pengujian terpenoid dan steroid) dan dibiarkan hingga kering. Setelah kering, ditambahkan asam sulfat pekat sebanyak 1 tetes, asam asetat sebanyak 1 tetes, dan dietil eter sebanyak 2 tetes, kemudian diamati perubahan warnanya. Sampel positif bila mengalami perubahan warna menjadi merah atau coklat untuk terpenoid (triterpenoid) dan perubahan warna biru, ungu, atau hijau untuk steroid.

Uji Saponin

Sebanyak 1 mL ekstrak metanol sampel daun sesewanua dimasukkan kedalam tabung reaksi, kemudian

ditambahkan 5 mL air panas dan ditambahkan 2 tetes HCl 2 N dan dikocok kuat. Setelah itu, dilihat apakah terbentuk buih setelah didiamkan selama 10 menit. Sampel positif mengandung saponin bila terdapat buih dengan intensitas yang banyak dan konsisten selama 10 menit.

Uji Tanin

Sebanyak 1 mL ekstrak metanol sampel daun sesewanua dimasukkan kedalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan FeCl₃ 1% sebanyak 2-3 tetes. Sampel positif mengandung tanin bila mengalami perubahan warna menjadi hijau kehitaman.

Penentuan Kandungan Total Fenolik (Murtijaya dan Lim, 2007)

Pembuatan Kurva Baku Asam Galat

Sebanyak 300 µl larutan asam galat dengan konsentrasi 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 mg/L masing-masing dimasukkan dalam tabung, kemudian ditambah 1,5 mL reagen Folin Ciocalteu dan digojog. Setelah didiamkan selama 3 menit, masing-masing larutan ditambah 1,2 mL larutan Na₂CO₃ 7,5% digojog homogen, dan didiamkan selama 60 menit pada suhu kamar. Semua larutan diukur absorbansinya pada λ 775 nm, kemudian dibuat kurva kalibrasi hubungan antara konsentrasi asam galat dengan absorbansi.

Penetapan Kadar Total Fenolik

Ekstrak etanol, etil asetat, dan *n*-heksan daun sesewanua dengan konsentrasi 1000 mg/L dipipet sebanyak 300 µl dan ditambahkan dengan 1,5 mL reagen Folin-Ciocalteu dan digojog. Setelah didiamkan selama 3 menit, ditambah 1,2 mL larutan Na₂CO₃ 7,5% dan didiamkan lagi selama 60 menit pada suhu kamar. Absorbansi ekstrak dibaca dengan spektrofotometer UV-VIS pada λ 775 nm. Hasilnya dinyatakan sebagai ekuivalen asam galat dalam mg/L ekstrak.

Penentuan Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH (Burda dan Olezek, 2001)

Sebanyak 1 mL ekstrak dengan konsentrasi 5, 10, 15, 20 dan 25 mg/L masing-masing ditambahkan 1 mL larutan 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) 90 µM dalam etanol dan divorteks selama 2 menit. Berubahnya warna larutan dari ungu ke kuning menunjukkan efisiensi penangkal radikal bebas. Selanjutnya pada 5 menit terakhir menjelang 30 menit inkubasi, absorbansi diukur pada λ 517 nm dengan menggunakan spektrofotometer UV-VIS. Aktivitas penangkal radikal bebas dihitung sebagai presentase berkurangnya warna DPPH dengan menggunakan persamaan :

$$\text{Aktivitas antioksidan (\%)} = 1 - \frac{\text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

Penentuan Nilai IC₅₀

Hasil perhitungan dari aktivitas antioksidan dimasukkan ke dalam persamaan garis $y = ax + b$ dengan konsentrasi (mg/L) sebagai absis (sumbu x) dan nilai % aktivitas antioksidan sebagai ordinatnya (sumbu y). Nilai IC₅₀ dari perhitungan pada saat % aktivitas antioksidan sebesar 50% akan diperoleh dari persamaan garis.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Identifikasi Sampel

Identifikasi sampel daun sesewanua dilakukan di Laboratorium Taksonomi Tumbuhan Program Studi Biologi FMIPA Universitas Sam Ratulangi Manado. Identifikasi sampel bertujuan untuk mengetahui kebenaran identitas sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah benar daun sesewanua, sehingga kesalahan dalam pengumpulan sampel yang akan diteliti dapat dihindari. Berdasarkan hasil identifikasi dapat diperoleh kepastian bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah jenis *Clerodendron squamatum* Vahl.

Preparasi Sampel

Sampel yang diperoleh terlebih dahulu dibersihkan dari pengotor seperti

debu dan tanah dengan menggunakan air mengalir. Sampel sebanyak 4 kg dirajang dan keringanginkan pada tempat yang tidak terkena sinar matahari secara langsung.

Pengeringan dilakukan selama 7 hari sehingga diperoleh sampel kering sebanyak 1,5 kg. Sampel kering dihaluskan dengan menggunakan blender. Serbuk sampel daun sesewanua yang diperoleh berwarna hijau tua diayak dengan ayakan 60 mesh sehingga diperoleh serbuk sampel sebanyak 700 g.

Penentuan Kadar Air

Penentuan kadar air daun sesewanua dilakukan dengan pemanasan oven dan diperoleh hasil yaitu 4,68%. Hasil yang diperoleh sudah baik, karena menurut Herawati *et al.* (2012) simplisia yang baik memiliki kadar air < 10%.

Ekstraksi Daun Sesewanua

Ekstraksi daun sesewanua dalam penelitian ini menggunakan metode maserasi. Menurut Sie (2013) kandungan antioksidan merupakan kandungan senyawa yang tidak tahan panas sehingga metode maserasi yang merupakan ekstraksi secara dingin akan lebih optimal dalam mengekstraksi senyawa antioksidan.

Ekstraksi dilakukan selama 3x24 jam disertai dengan pengadukan dan setiap 24 jam ekstrak disaring dan dimaserasi kembali dengan pelarut yang baru. Remaserasi diperlukan untuk mengganti larutan yang telah jenuh dengan pelarut yang baru sehingga semua senyawa kimia yang terkandung dalam tanaman dapat ditarik secara optimal.

Pelarut yang digunakan dalam penelitian ini adalah etanol, etil asetat, dan *n*-heksan. Tujuan penggunaan tiga pelarut dengan polaritas yang berbeda adalah untuk mengetahui rendemen dan mendapatkan senyawa aktif dari daun sesewanua berdasarkan tingkat kepolarannya. Ekstraksi menggunakan pelarut dengan kepolaran yang berbeda akan menghasilkan komponen polifenol yang berbeda sehingga sifat antioksidan yang dimiliki oleh setiap senyawa yang diperoleh dari ekstraksi

tersebut juga berbeda (Pambayun *et al.*, 2007).

Ekstrak etanol (EE) memiliki rendemen sebesar 6,6%, ekstrak etil asetat (EEA) memiliki rendemen sebesar 5%, dan ekstrak *n*-heksan (ENH) memiliki rendemen sebesar 2%. Hasil ini sesuai seperti yang dinyatakan Priyanto (2010) bahwa rendemen ekstrak hasil maserasi dengan pelarut yang berbeda akan menghasilkan rendemen yang berbeda.

Skrining Fitokimia

| Uji Skrining Fitokimia | Hasil | Indikator |
|---------------------------------------|-------|---|
| Fenolik | + | Berwarna biru kehitaman |
| Flavonoid | | |
| a. HCl pekat + Mg | + | Berbuih, berwarna jingga |
| b. H ₂ SO ₄ 2 N | + | Berwarna kuning, merah atau jingga |
| c. NaOH 10% | + | Berwarna kuning, merah, coklat atau hijau |
| Alkaloid | | |
| a. Reagen Wagner | + | Terbentuk endapan kecoklatan |
| Terpen dan Steroid | - | Berwarna merah atau coklat dan steoid jika berwarna biru, ungu atau hijau |
| Saponin | - | Berbuih konstan selama 10 menit |
| Tanin | - | Berwarna hijau kehitaman |

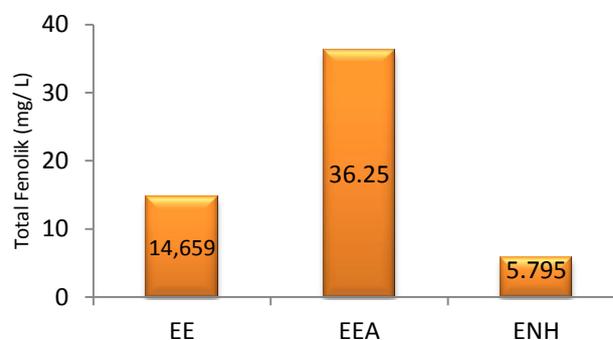
Pada Tabel dapat diketahui hasil uji skrining fitokimia dengan metode Harbone (1996) menunjukkan bahwa daun sesewanua mengandung metabolit sekunder seperti fenolik, flavonoid, dan alkaloid.

Pada pengujian skrining fitokimia untuk metabolit sekunder saponin, tanin, terpen dan steroid diperoleh hasil yang negatif karena sampel tidak mengalami perubahan warna yang sesuai dengan indikator.

Penentuan Kandungan Total Fenolik

Penentuan kandungan total fenolik merupakan perkiraan kasar jumlah senyawa fenolik yang terdapat dalam suatu bahan. Kebanyakan senyawa fenolik biasanya bersifat antioksidan oleh karena itu pengukuran total fenolik dapat digunakan untuk memperkirakan aktifitas antioksidan suatu bahan (Rahmat, 2009).

Pada penetapan kadar total fenolik, sampel direaksikan dengan Folin Ciocalteu dalam suasana alkalis kemudian dibaca pada λ 775 nm setelah didiamkan selama 60 menit. Sebagai standar digunakan asam galat yang merupakan senyawa fenolik dan dikenal sebagai antioksidan yang kuat (Nurwaini *et al.*, 2006). Kurva baku asam galat ditetapkan dengan menggunakan persamaan regresi linier, yang menyatakan hubungan antara konsentrasi asam galat dinyatakan sebagai x dan absorbansi asam galat dengan pereaksi Folin Ciocalteu dinyatakan sebagai y. Pada penelitian ini diperoleh persamaan kurva baku asam galat yaitu $y = 0,022x + 0,323$ dengan $r^2 = 0,998$.



Berdasarkan gambar dapat diketahui kandungan total fenolik dari ekstrak daun sesewanua yang paling tinggi terdapat pada ekstrak etil asetat (EEA) yaitu sebesar 36,25 mg/L, diikuti ekstrak etanol (EE) sebesar 14,659 mg/L, dan ekstrak *n*-heksan (ENH) sebesar 5,795 mg/L.

Rohman *et al.* (2006) melaporkan bahwa pelarut etil asetat sangat cocok untuk mengekstraksi senyawa fenolik, hal ini sesuai dengan hasil yang diperoleh dimana kandungan total fenolik tertinggi terdapat pada ekstrak etil asetat daun sesewanua.

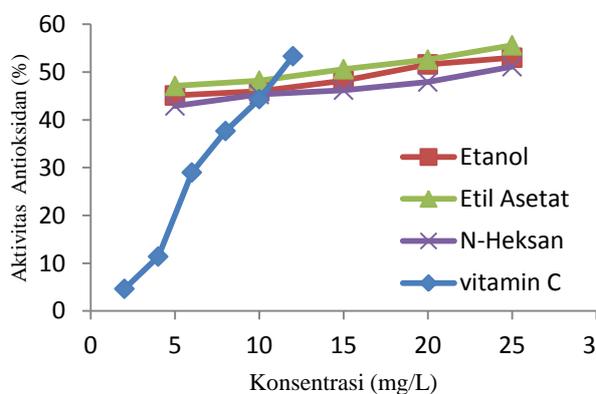
Penentuan Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

Konsentrasi ekstrak sampel daun sesewanua yang digunakan adalah 5, 10, 15, 20, dan 25 mg/L dalam pelarut etanol. Pada pengujian aktivitas antioksidan ini digunakan vitamin C sebagai pembanding dengan konsentrasi 2, 4, 6, 8, 10, dan 12 mg/L. Vitamin C digunakan sebagai pembanding

karena menurut Youngson (2005) vitamin C merupakan antioksidan yang kuat.

Aktivitas antioksidan diukur dengan menghitung jumlah pengurangan intensitas cahaya ungu DPPH yang sebanding dengan pengurangan konsentrasi DPPH. Perendaman tersebut dihasilkan oleh bereaksinya molekul difenil pikri hirazil dengan atom hidrogen yang dilepaskan oleh molekul komponen sampel sehingga terbentuk senyawa difenil pikril hidrazin dan menyebabkan terjadinya peluruhan warna DPPH dari ungu menjadi kuning (Zuhra *et al.*, 2008).

Aktivitas antioksidan merupakan kemampuan suatu senyawa atau ekstrak untuk menghambat reaksi oksidasi yang dapat dinyatakan dengan persentase penghambatan atau persentase inhibisi. Pada gambar dibawah dapat dilihat bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang digunakan maka semakin besar aktivitas antioksidan yang diperoleh.



Parameter yang digunakan untuk menunjukkan aktivitas antioksidan adalah IC_{50} yang merupakan konsentrasi suatu zat antioksidan yang dapat menyebabkan 50% DPPH kehilangan karakter radikal atau konsentrasi suatu zat antioksidan yang memberikan persentase penghambatan 50% (Molyneux, 2004). Dibuat persamaan regresi linear antara konsentrasi (mg/L) sebagai absis (sumbu x) dan nilai aktivitas antioksidan (%) sebagai ordinatnya (sumbu y) dari persamaan regresi tersebut dapat ditentukan nilai IC_{50} masing-masing ekstrak.

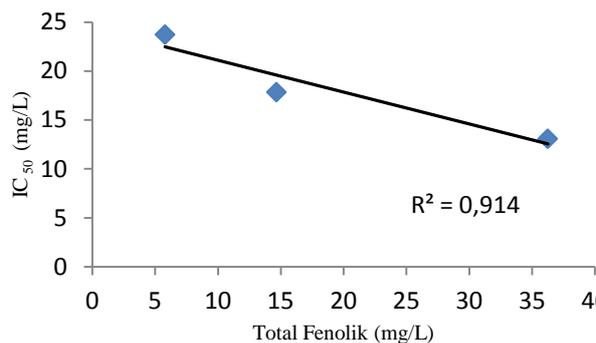
| Ekstrak | Persamaan Grafik | Nilai IC_{50} (mg/L) |
|------------------|---------------------------------------|------------------------|
| Etanol | $y = 0,428x + 42,36$ $r^2 = 0,966$ | 17,85 |
| Etil Asetat | $y = 0,428x + 44,4$ $r^2 = 0,979$ | 13,084 |
| <i>n</i> -Heksan | $y = 0,38x + 40,98$ $r^2 = 0,964$ | 23,737 |
| Vitamin C | $y = 5,012x - 5,026$ $r^2 = 0,978$ | 10,978 |

Pada Tabel diatas dapat diketahui bahwa slope pada persamaan regresi linear dari ekstrak etanol dan etil asetat adalah sama yaitu 0,428 sehingga dapat dikatakan bahwa aktivitas antioksidan kedua ekstrak tersebut sama tetapi lebih tinggi dari aktivitas antioksidan ekstrak *n*-heksan yang memiliki slope 0,38.

Berdasarkan hasil perhitungan IC_{50} ekstrak etil asetat memiliki aktivitas antioksidan tertinggi dengan nilai IC_{50} sebesar 13,084 mg/L dibandingkan dengan ekstrak etanol dan *n*-heksan, tetapi memiliki aktivitas antioksidan yang lebih rendah dari vitamin C yang memiliki IC_{50} sebesar 10,978 mg/L.

Menurut Molyneux (2004) secara spesifik suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat jika nilai $IC_{50} < 50$ mg/L. Sehingga berdasarkan hal tersebut, ekstrak etanol, etil asetat, dan *n*-heksan dari daun sesewanua dapat dikatakan sebagai antioksidan yang sangat kuat karena memiliki $IC_{50} < 50$ mg/L.

Ekstrak etil asetat memberikan pengaruh efektifitas yang tinggi sebagai antioksidan terhadap radikal 2,2 *diphenyl-1-picrylhydrazil* (DPPH). Keefektifan antioksidan pada ekstrak etil asetat dalam menetralkan radikal bebas diduga berkaitan dengan sifat etil asetat yang semi polar sehingga banyak komponen bioaktif yang larut di dalamnya.



Hubungan antara IC₅₀ dengan kandungan total fenolik ekstrak daun sesewanua mempunyai koefisien korelasi (r^2) sebesar 0,91. Adanya keeratan hubungan antara total fenolik (sumbu y) dengan IC₅₀ pada masing-masing ekstrak ditunjukkan dengan harga koefisien korelasi yang mendekati satu.

Menurut Huang *et al.*, (2005) Aktivitas antioksidan berbanding lurus dengan total fenol, semakin tinggi kandungan fenol dalam suatu bahan semakin tinggi pula aktivitasnya sebagai antioksidan. Hal ini sesuai dengan hasil yang diperoleh dimana ekstrak etil asetat memiliki kandungan total fenolik yang lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak etanol dan ekstrak *n*-heksan sehingga ekstrak etil asetat dari daun Sesewanua memiliki aktivitas antioksidan yang lebih kuat dibandingkan dengan ekstrak etanol dan ekstrak *n*-heksan dari daun sesewanua.

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan dapat diambil kesimpulan :

- a. Ekstrak etil asetat dari daun sesewanua memiliki kandungan total fenolik tertinggi sebesar 36,25 mg/L, diikuti ekstrak etanol sebesar 14,659 mg/L, dan ekstrak *n*-heksan sebesar 5,795 mg/L.
- b. Ekstrak etil asetat daun sesewanua memiliki aktivitas antioksidan tertinggi dengan nilai IC₅₀ sebesar 13,084 mg/L, diikuti ekstrak etanol sebesar 17,85 mg/L, dan ekstrak *n*-heksan sebesar 23,737 mg/L.

SARAN

Sebaiknya dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengaplikasikan ekstrak dari daun sesewanua ke dalam bentuk formulasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Andarwulan, N., Wijaya, H., Cahyono, T. 1996. *Aktivitas Antioksidan dari Daun Sirih (Piper betle L). Teknologi dan Industri Pangan.* 7: 6-9.
- Association of Official Analytical Chemist. 1999. *Official Methods of Analysis. 13th Edition.* Association of Official Analytical Chemist, Washington D.C..
- Burda, S., W. Olezek. 2001. Antioxidant and Antiradical Activities of Flavonoids. *Journal Agricultural Food Chemistry.* 49: 2774-2779.
- Fajarullah, A. 2014. *Ekstraksi Senyawa Metabolit Sekunder Lamun Thalassodendron ciliatum Pada Pelarut Berbeda.* FIKP UMRAH, Tanjung Pinang.
- Harborne. 1996. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan Terbitan Kedua.* Terjemahan K. Padmawinata dan I. Soediro. ITB. Bandung.
- Herawati, D., Nuraida, L., Sumarto. 2012. *Cara Produksi Simplisia yang Baik.* Seafast Center IPB, Bogor.
- Hernani., Raharjo, M. 2005. *Tanaman Berkhasiat Antioksidan.* Penebar Swadya, Jakarta.
- Huang, D., Ou B., Prior R. L. 2005. The Chemistry Behind Antioxidant Capacity Assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 54: 1841-1856.
- Marliana, E. 2007. Analisis Senyawa Metabolit Sekunder dari Batang Spatholobus ferrugineus (Zoll & Moritzi) benth yang berfungsi sebagai antioksidan. *Jurnal Penelitian Mipa.* 1: 23-25.
- Meenakshi, M., Veeru, P., Kishor, M. P. 2009. Screening of Medicinal Plant Extracts for Antioxidant Activity.

- Journal of Medicinal Plant Research*. 3: 8-12.
- Molyneux, P. 2004. The Use of The Stable Free Radical Diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. *Journal of Science and Technology*. 26: 211-219.
- Moot, C. Luigy., W. Bodhi., J. Mongi. 2013. Uji efek antipiretik infusa daun sesewanua (*Clerodendron squamatum* Vahl.) terhadap kelinci jantan yang diinduksi vaksin DTP HB. *Pharmacon*. 2: 58-61.
- Murtijaya, J., Lim Y.Y. 2007. Antioxidant Properties of Phylanthus amarus Extracts as Affected by Different Drying Methods. *Food Science Technology*. 40: 1664-1669.
- rohNurwaini, S., Sofiana, Y. R., Noor. I. R., Rahayu, R. 2006. Uji Aktivitas Antiradikal Ekstrak Herba Cakar Ayam (*Selaginella doederleinii* Hieron), Herba Keladi Tikus (*Typhonium divaricatum* (L) Decne) dan Daun Eugenia uniflora Linn sebagai Sumber Alternatif Pencegahan Degeneratif. *Laporan PKMP*. 2: 1-11.
- Pambayun, R., Gardjito, M., Sudarmadji, S., Kuswanto, K.R. 2007. Kandungan fenol dan sifat antibakteri dari berbagai jenis ekstrak produk gambir (*Uncaria gambir* Roxb). *Majalah Farmasi Indonesia*. 18: 141 – 146.
- Priyanto, R.A. 2012. *Aktivitas Antioksidan Dan Komponen Bioaktif Pada Buah Bakau (Rhizophora mucronata Lamk.)* [Skripsi]. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Rahmat, H. 2009. *Identifikasi Senyawa Flavonoid pada Sayuran Indegenous di Jawa Barat* [Skripsi]. ITB, Bogor.
- Rohman, A., Riyanto, S., Utari, D. 2006. Aktivitas Antioksidan, Kandungan Fenolik Total dan Kandungan Flavonoid Total Ekstrak Etil Asetat Buah Mengkudu serta Fraksi-Fraksinya. *Majalah Farmasi Indonesia*. 17: 136-142.
- Sangi, M., Runtuwene, M.R.J., Simbala, H.E.I., Makang, V.M.A. 2008. Analisis Fitokimia Tumbuhan Obat di Kabupaten Minahasa Utara. *Chemistry Progress*. 1: 47-53.
- Sie, J. O. 2013. Daya Antioksidan Ekstrak Etanol Kulit Buah Manggis (*Garcinia Mangostana* Linn.) Hasil Pengadukan dan Reflux. *Calyptra*. 2: 1-10.
- Singh, R.P., Sharad. S., Kapur. S. 2004. Free Radicals and Oxidative Stress in Neurodegenerative Diseases. *Relevance of Dietary Antioxidants*. 5: 218-25.
- Ukieyanna, E. 2012. *Aktivitas antioksidan, kadar fenolik, dan Flavonoid total tumbuhan suruhan (Peperomia pellucida L. Kunth)*. ITB, Bogor.
- Youngson, R. 2005. *Antioksidan Manfaat Vitamin C dan E Bagi Kesehatan*. Arcan, Jakarta.
- Zuhra, C.F., Juliati, B.T., Herlince, S. 2008. Aktivitas Antioksidan Senyawa Flavonoid dari Daun Katuk (*Sauropus androgunus* (L) Merr.). *Jurnal Biologi Sumatra*. 3:7-10.