

# **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**

**Bekti Nugraheni<sup>1)</sup>, Ehta Narasukma Anggraeny<sup>2)</sup>, Intan Martha Cahyani<sup>3)</sup>,**

<sup>1)2)3)</sup> Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Yayasan Pharmasi Semarang

e-mail : [bn.nugraheni@gmail.com](mailto:bn.nugraheni@gmail.com)

### **ABSTRAK**

Gangguan kesehatan dan penyakit degeneratif salah satunya disebabkan karena adanya radikal bebas dalam tubuh. Radikal bebas ini bersifat tidak stabil dan reaktif. Penelitian ini bertujuan adalah untuk mengetahui kadar flavonoid total tertinggi dan aktivitas antioksidan terbesar pada ekstrak daun Dandang Gendis (*Clinacanthus nutans* L.) segar dan kering. Metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi selama 5 hari, kemudian masing-masing ekstrak dilakukan *screening* fitokimianya. Pengujian kadar flavonoid total dan aktivitas antioksidan menggunakan pereaksi  $AlCl_3$  dan *1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil* (DPPH) pada panjang gelombang ( $\lambda$ ) 441,7 dan 516,2 nm. Hasil penelitian ekstrak etanol daun kering memiliki nilai rerata kadar flavonoid total yang paling tinggi sebesar  $48,03 \pm 0,23$  mg/g. Nilai  $EC_{50}$  terkecil dihasilkan oleh ekstrak etanol daun kering sebesar  $1898,10 \pm 18,83$  ppm. Aktivitas antioksidan dinyatakan dengan nilai  $EC_{50}$ , semakin kecil nilai  $EC_{50}$  maka semakin besar aktivitas antioksidan suatu senyawa.

**Kata kunci : daun dandang gendis, segar, kering, flavonoid total, dan antioksidan.**

### **ABSTRACT**

One of the causes of health problems and degenerative diseases is the presence of free radicals in the body. These free radicals are unstable and reactive. This study aims to determine the highest total flavonoid levels and the greatest antioxidant activity in fresh and dry Dandang Gendis (*Clinacanthus nutans* L.) leaf extract. The extraction method used was maceration for 5 days, then each extract was screened for phytochemicals. Testing of total flavonoid levels and antioxidant activity used  $AlCl_3$  and *1,1-Diphenyl-2-Pikrilhidrazil* (DPPH) reagents at 441.7 and 516.2 nm wavelengths ( $\lambda$ ) of 441.7 and 516.2 nm. The results of this study were that the ethanol extract of dry leaves had the highest mean value of total flavonoid levels of  $48.03 \pm 0.23$  mg / g. The smallest  $EC_{50}$  value was produced by the dry leaf ethanol extract of  $1898.10 \pm 18.83$  ppm. Antioxidant activity is expressed by the  $EC_{50}$  value, the smaller the  $EC_{50}$  value, the greater the antioxidant activity of a compound.

**Keywords:** Dandang Gendis leaves, fresh, dry, total flavonoids, and antioxidants.

### **PENDAHULUAN**

**R**adikal bebas dalam tubuh bersifat sangat reaktif dan tidak stabil. Oleh karena itu tubuh yang tidak mampu menetralkan radikal bebas dapat mengalami gangguan kesehatan dan penyakit degeneratif (Sayuti, 2015). Hal tersebut menunjukkan bahwa tubuh memerlukan tambahan senyawa antioksidan yang berasal dari luar. Penggunaan antioksidan sintetik belum diketahui efek sampingnya, sehingga pemilihan antioksidan alami menjadi alternatif yang sangat dibutuhkan (Sunarti, 2005), salah satunya yaitu yang berasal dari tanaman.

Tanaman dandang gendis (*Clinacanthus nutans* L.) terbukti memiliki aktivitas antioksidan karena kandungan flavonoidnya. Ekstrak metanol daun dandang gendis mengandung flavonoid seperti katekin, kuersetin, kamferol dan luteolin dengan aktivitas antioksidan dari kuersetin

sebesar 51,3% dan EC<sub>50</sub> sebesar 98,2 ppm (Ghasemzadeh *et al.*, 2014). Fraksi air dari ekstrak metanol daun dan batang dandang gendis mengandung enam flavon glikosida yaitu *vitexin*, *isovitexin*, *shaftoside*, *isomollupentin*, *7-o-β-glucopyranoside*, *orientin*, dan *isoorientin* (Aslam *et al.*, 2015). Ekstrak etanol daun dandang gendis yang difraksinasi dengan *n*-heksan, etil asetat dan air menunjukkan bahwa daun dandang gendis berpotensi sebagai antioksidan dengan nilai EC<sub>50</sub> fraksi air 532,24 ppm dan EC<sub>50</sub> fraksi etil asetat 1895,48 ppm (Nugraheni *et al.*, 2017).

Dalam proses ekstraksi suatu bahan tanaman, banyak faktor yang dapat mempengaruhi kandungan senyawa hasil ekstraksi antara lain: perlakuan pendahuluan, pelarut, suhu, dan pengadukan (Chandra, 2015). Berdasarkan uraian tersebut tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui kadar flavonoid total tertinggi dan aktivitas antioksidan terbesar pada ekstrak daun Dandang Gendis (*Clinacanthus nutans* L.) segar dan kering.

## **METODE PENELITIAN**

### **Alat Dan Bahan**

**Alat.** Almari pengering, ayakan nomor 30/40, neraca analitik, bejana, gelas ukur (Herma), cawan porselein, corong kaca (pyrex), *beakerglass* (Herma), *rotary vacum evaporator*, *watherbath (GEL)*, pipet volume, tabung reaksi, labu takar (pyrex), spektrofotometer UV-Vis 1850 (Shimazhu).

**Bahan.** Bahan uji yang digunakan adalah daun dandang gendis yang diperoleh dari Temu Kencono Kota Semarang, etanol (*Merck*), metanol (*Brataco*), etil asetat (*Brataco*), butanol (*Merck*), *n*-heksan (*Brataco*), kuersetin (*sigma aldrich*) dan 1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil (DPPH) (*sigma aldrich*).

### **Prosedur Penelitian**

#### **Preparasi Sampel**

Daun dandang gendis disortasi dan dicuci. Sampel segar dibuat dengan cara daun dipotong kecil-kecil, sedangkan sampel kering dibuat dengan cara daun dikeringkan pada almari pengering (suhu 40-50°C), kemudian dihaluskan dan diayak (no.30/40).

#### **Proses Ekstraksi**

Sampel segar dan kering daun dandang gendis ditimbang 50,0 gram, dimasukkan bejana dan ditambah 500 mL masing-masing pelarut ekstraksi (etanol, metanol, etil asetat, butanol, dan *n*-heksan). Perendaman dilakukan selama 5 hari dan sesekali diaduk. Kemudian sampel disaring dan diuapkan menggunakan *rotary evaporator* (suhu 70°C).

#### **Pembuatan Larutan Sampel**

Dibuat sampel induk dengan cara masing-masing sampel ditimbang 250,0 mg dilarutkan metanol (p.a) dan dicukupkan volumenya dalam labu takar 50,0 mL. Baku induk kemudian dibagi menjadi dua larutan sampel. Larutan sampel 1,0 mL digunakan untuk pengujian aktivitas antioksidan, dengan cara dibuat 5 seri konsentrasi sampel yaitu: 2500, 3000, 3500, 4000, dan 4500 ppm. Larutan sampel 2,0 mL digunakan untuk pengukuran kadar total flavonoid.

#### **Pengukuran Kadar Total Flavonoid**

Baku kuersetin ditimbang sebanyak 50,0 mg dimasukkan labu takar 50,0 mL dan dicukupkan volumenya dengan metanol p.a. Kemudian dibuat deret baku dengan konsentrasi 2, 4, 6, 8, dan 10 ppm. Setelah diperoleh absorbansi baku dilakukan pengukuran sampel dengan cara memipet 3,0 mL larutan sampel, ditambahkan 3,0 mL larutan AlCl<sub>3</sub> 10%, dihomogenkan dan dibaca serapannya pada λ 441,7 nm.

#### **Pengujian Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH**

Penentuan aktivitas antioksidan dilakukan dengan cara memipet 1,0 mL larutan sampel, ditambah 3,0 mL DPPH 0,1 mM (1:3), dimasukkan dalam tabung reaksi yang bagian luarnya

telah dilapisi aluminium foil. Campuran tersebut divortex selama 1 menit, didiamkan di tempat gelap sesuai *Operating Time* masing-masing sampel. Kemudian absorbansi larutan dibaca pada  $\lambda$  516,2 nm. Dilakukan pula pembacaan absorbansi larutan kontrol. Aktivitas antioksidan dinyatakan dengan "Efficient Concentration" yaitu konsentrasi sampel (x) yang dapat meredam 50% radikal DPPH (y=50). Nilai EC<sub>50</sub> diperoleh dari hasil regresi linear konsentrasi larutan uji vs % aktivitas antioksidan, sehingga diperoleh persamaan  $y=bx+a$ . Persentase aktivitas antioksidan ditentukan dengan rumus:

$$\% \text{ aktivitas antioksidan} = \frac{(A \text{ kontrol} - A \text{ sampel})}{A \text{ kontrol}} \times 100\%$$

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Metode penelitian ini yaitu maserasi menggunakan lima jenis pelarut berbeda yaitu etanol, metanol, etil asetat, butanol dan *n*-heksan, kemudian diuji kadar flavonoid total dan aktivitas antioksidannya. Hasil pengamat secara visual menunjukkan daun Dandang Gendis segar berwarna hijau karena mengandung klorofil. Sedangkan daun Dandang Gendis kering berwarna coklat, hal ini berkaitan dengan kandungan air yang sedikit serta terjadi proses oksidasi yang melibatkan enzim seperti oksigenasi, dan lipoksigenase, peroksidase (Gross, 1991). *Screening* fitokimia untuk mengetahui kandungan senyawa yang terdapat pada ekstrak daun dandang gendis. Hasil *screening* fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak etanol memiliki kandungan senyawa fitokimia paling lengkap dibandingkan ekstrak yang lain. Penelitian Nugraheni, *et al.* (2017) yang menunjukkan ekstrak etanol memiliki kandungan senyawa fenolik, polifenol, tanin, flavonoid, alkaloid, saponin dan steroid. Perbedaan kandungan senyawa pada ekstrak disebabkan oleh tingkat polaritas pelarut yang digunakan. Senyawa etanol merupakan senyawa semipolar yang cenderung polar dibanding pelarut yang lain, sehingga dapat menarik seluruh senyawa yang bersifat polar, semi polar dan nonpolar (Adijuwana, 2010). Hasil *screening* fitokimia ekstrak daun dandang gendis pada tabel 1.

**Tabel 1.** Hasil *Screening* Fitokimia Ekstrak Daun Dandang Gendis

Nama zat	Pereaksi	Warna (pustaka)	Ekstrak				
			Etanol	Metanol	Etil Asetat	Butanol	<i>n</i> -heksan
Flavonoid	0,1g Serbuk Mg + 10 tts HCl(p)	Kuning jingga, merah jingga sampai merah coklat (Depkes RI, 2017)	+	+	+	+	+
Tanin	larutan gelatin 1% dalam NaCl 10% 10 mL air, dikocok kuat selama 10" + 1 tts HCl 2N	Endapan putih (Rai <i>et al.</i> , 2013)	+	+	+	+	+
Saponin		Buih mantap selama 10' setinggi 1-10 cm (Depkes RI, 2017)	+	-	-	-	-
Steroid/ Triterpenoid	Eter + kloroform + 2tts asam asetat anhidrat dan 1 tetes H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (p) 1 mL HCl 2N + 9	Steroid : merah/ungu, terpenoid : warna hijau (Rai <i>et al.</i> , 2013)	+	+	+	+	+
Alkaloid	Filtrat 1 :+ <i>Dragendorff</i>	Filtrat 1 : Endapan bewarna jingga hingga merah	+	+	+	+	+

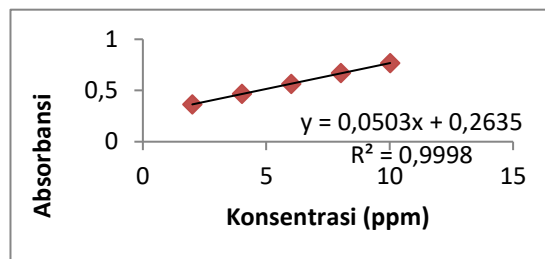
Filtrat 2 : +  
Mayer

Filtrat 2 :  
Endapan putih  
(Hanani, 2015)

Keterangan : (-) = hasil negatif, (+) = hasil positif

### Kadar Total Flavonoid

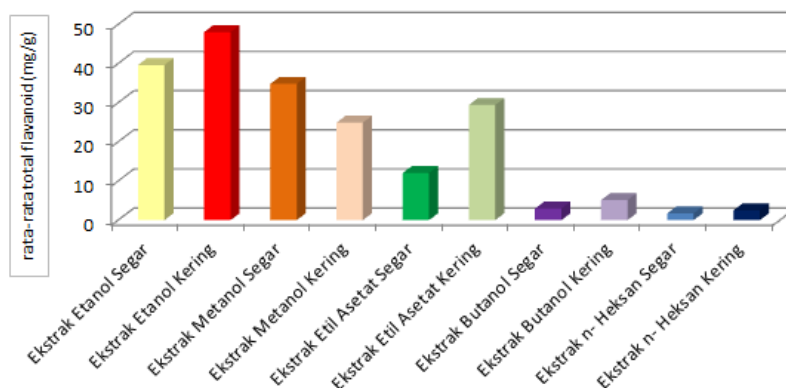
Beberapa penelitian terkait aktivitas biologis flavonoid (Dong *et al.*, 2011; Iriti dan Varoni, 2013; Sak, 2014) digunakan untuk memperbaiki sel yang rusak akibat radikal bebas hingga mengurangi resiko kanker. Pada penelitian ini, pengukuran kadar flavonoid total diawali dengan pembuatan kurva kalibrasi standar menggunakan baku kuersetin konsentrasi 2, 4, 6, 8, dan 10 ppm yang ditunjukkan pada gambar 1. Berdasarkan regresi linier didapatkan persamaan regresi  $y = 0,0503x + 0,2635$  sehingga didapatkan kadar flavonoid yang tertinggi terdapat dalam ekstrak etanol kering sebesar  $48,03 \pm 0,23$  mg/g. Data hasil perhitungan kadar flavonoid total daun dandang gendis dapat dilihat pada tabel 2, dan gambar 2.



Gambar 1. Kurva Kalibrasi Kuersetin

Tabel 2. Kadar Flavonoid Total Daun Dandang Gendis

Sampel	Kadar Flavonoid Total (mg/g)
Ekstrak Etanol Segar	39,61±0,56
Ekstrak Etanol Kering	48,03±0,23
Ekstrak Metanol Segar	34,80±0,54
Ekstrak Metanol Kering	24,90±0,79
Ekstrak Etil Asetat Segar	12,05±0,50
Ekstrak Etil Asetat Kering	29,40±0,40
Ekstrak Butanol Segar	2,95±0,22
Ekstrak Butanol Kering	5,13±0,29
Ekstrak n- Heksan Segar	1,74±0,16
Ekstrak n- Heksan Kering	2,49±0,76

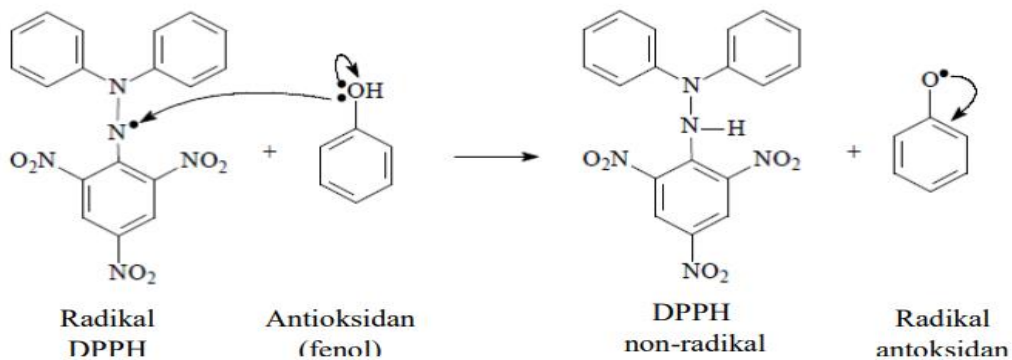


Gambar 2. Diagram Kadar Flavonoid Total Ekstrak Daun Dandang Gendis

### Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

Reaksi pada pengujian antioksidan dengan DPPH menggunakan spektrofotometer menunjukkan penurunan intensitas warna larutan DPPH yang semakin memudar. DPPH adalah senyawa radikal yang berwarna ungu memiliki satu atom yang tidak berpasangan. Senyawa ini memiliki serapan maksimal pada  $\lambda$  516,4 nm. Pada awalnya sebelum direaksikan, larutan DPPH berwarna ungu pekat. Setelah direaksikan dengan senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan, larutan tersebut berubah menjadi kuning. Perubahan tersebut terjadi ketika elektron ganjil dari radikal bebas DPPH telah berpasangan dengan hidrogen dari senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan dan akan membentuk DPPH-H tereduksi. Semakin kecil nilai  $EC_{50}$  maka semakin besar aktivitas antioksidan dari suatu senyawa, hal ini dikarenakan dengan konsentrasi yang kecil telah mampu meredam radikal bebas DPPH sebesar 50%.

Reaksi ini memberikan peningkatan kompleks non radikal dan menurunkan radikal DPPH (Molyneux, 2004). Adapun reaksi antara DPPH dan antioksidan fenolik sebagai berikut:



**Gambar 3.** Reaksi DPPH dengan Antioksidan

Berdasarkan tabel 3 hasil uji aktivitas antioksidan menunjukkan bahwa ekstrak etanol kering memiliki nilai  $EC_{50}$  yang paling kecil yaitu  $1898,10 \pm 18,83$  ppm. Hal tersebut menunjukkan ekstrak etanol kering memiliki kemampuan untuk meredam radikal bebas yang paling besar dibandingkan ekstrak yang lain. Senyawa fenolik (flavonoid) berkontribusi sebagai aktivitas antioksidan pada semua bagian tanaman. Kandungan antioksidan yang berbeda-beda disebabkan karena polaritas pelarut yang berbeda-beda. Jadi semua metode ekstraksi yang digunakan untuk menilai aktivitas antioksidan dipengaruhi kuat oleh pelarut yang digunakan selama ekstraksi (Sultana *et al.*, 2009).

**Tabel 3.** Nilai  $EC_{50}$  Ekstrak Daun Dandang Gendis

Sampel	$EC_{50}$ (ppm)
Vitamin C	$3,25 \pm 0,05$
Ekstrak Etanol Segar	$1909,85 \pm 44,42$
Ekstrak Etanol Kering	$1898,10 \pm 18,83$
Ekstrak Metanol Segar	$2074,23 \pm 69,60$
Ekstrak Metanol Kering	$1911,65 \pm 127,70$
Ekstrak Etil Asetat Segar	$2137,38 \pm 46,96$
Ekstrak Etil Asetat Kering	$2254,57 \pm 23,07$
Ekstrak Butanol Segar	$3697,34 \pm 311,50$
Ekstrak Butanol Kering	$2984,19 \pm 25,70$
Ekstrak <i>n</i> -Heksan Segar	$4418,20 \pm 82,98$
Ekstrak <i>n</i> -Heksan Kering	$4851,16 \pm 277,20$

Besarnya kemampuan aktivitas antioksidan tersebut disebabkan oleh tingginya konsentrasi flavonoid yang ada pada ekstrak etanol kering. Sifat flavonoid yang secara alami berikatan dengan gula dalam bentuk *C*-glikosida maupun *O*-glikosida menyebabkan flavonoid bersifat polar sehingga lebih banyak tersari oleh pelarut yang cenderung polar yaitu etanol. Zat aktif pada sampel daun kering akan lebih mudah tersari dibandingkan sampel daun segar, hal tersebut dikarenakan perbedaan kandungan air dalam sampel. Pada sampel daun kering cairan penyari akan lebih mudah untuk menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif karena tidak terhalang oleh air pada daun sehingga nilai EC<sub>50</sub> yang dihasilkan pada ekstrak daun kering cenderung lebih kecil dibandingkan sampel daun segar.

## KESIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun kering memiliki nilai rerata kadar total flavonoid yang paling tinggi sebesar 48,03±0,23 mg/g. Nilai EC<sub>50</sub> terkecil dihasilkan oleh ekstrak etanol daun kering sebesar 1898,10±18,83 ppm, sehingga ekstrak etanol daun kering memiliki aktivitas antioksidan terbesar.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih disampaikan kepada Kementerian Riset, Teknologi, dan Pendidikan Tinggi untuk Hibah Penelitian Antar Perguruan Tinggi SKIM, DIPA Nomor: 042.06.1.40156/2017.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adijuwana, N.M.A. 2010. *Tehnik Spektroskopi Dalam Analisis Biologi*. Bogor: IPB press.
- Aslam, M.S., Ahmad, M.S., dan Mamat, A.S. 2015. A Review On Phytochemical Constituents And Pharmacological Activities Of *Clinacanthus nutans*. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 7 (2): 30-33.
- Chandra, A. 2015. Studi Awal Ekstraksi Batch Daun Stevia Rebaudiana dengan Variabel Jenis Pelarut dan Temperatur Ekstraksi. *PROS SEM NAS MASY BIODIVER INDON*, Vol 1, No 1, Hal: 114-119.
- Depkes RI. 2017. *Farmakope Herbal Indonesia*. Edisi II. Jakarta: Depkes RI.
- Dong, X., Wang, Y., Liu, T., Wu, P., Gao, J., Xu, J. 2011. Flavonoids as Vasorelaxant Agents: Synthesis, Biological Evaluation and Quantitative Structure Activities Relationship (QSAR) Studies. *Molecules* 16:8257- 8272.
- Ghasemzadeh, A., Alireza, N., Hawa, Z.E., Jaafar, Ali, B. dan Ahmad, I. 2014. Changes in Phytochemical Synthesis, Chalcone Synthase Activity and Pharmaceutical Qualities of Sabah Snake Grass (*Clinacanthus nutans* L.) in Relation to Plant Age. *Molecules*. (19): 7632-17648.
- Gross, J. 1991. *Pigment in Vegetables*. An Avi Book, Van Nostrand Reinhold, New York.
- Hanani, E. 2015. *Analisis Fitokimia*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Iriti, M dan Varoni, E.M. 2013. Chemopreventive Potential of Flavonoids in Oral Squamous Cell Carcinoma in Human Studies. *Nutrients* 5:2564-2576.
- Molyneux, P. 2004. The Use of The Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioksidant Activity. *Journal Science Technology*. Vol. 26 (2) : 211-219.
- Nugraheni, B., Anggraeni, E.N., Cahyani, I.M., Retnaningsih, C., dan Ananingsih, V.K. 2017. Antioxidant Activity Test and Determination of EC<sub>50</sub> Extract and Fraction of Dandang Gendis Leaves (*Clinacanthus Nutans*) By DPPH Method (1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl) in Vitro. *Proceeding of The 2<sup>nd</sup> UMP-PIC & 8<sup>th</sup> ISCC Universitas*.
- Rai, V., Pai, V.R., Kedilaya, P., dan Hedge, S. 2013. Preliminary Phytochemical Screening of Members Lamiaceae Family : *Leucas linifolia*, *Coleus aromaticus* and *Pogostemon patchouli*. *International Journal Pharmacy Science Review* .Vol. 21 (1) : 131-137.
- Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Diterjemahkan oleh Padmawinata, Kokasih. Bandung : Penerbit ITB.
- Sak, K. 2014. Cytotoxicity of dietary flavonoids on different human cancer types. *Pharmacogn*

*Rev* 8 (16):122- 146

Sayuti, K., dan Yennina, R. 2015. *Antioksidan Alami dan Sintetik*. Padang: Andalas Univesity Press.

Sultana, B., Anwar, F. dan Ashraf, M. 2009. Effect of extraction solvent/technique on the antioxidant activity of selected medicinal plant extracts. *Molecules* 14: 2167-2180.

Sunarti, T. 2005. Aktivitas Antioksidan Penangkap Radikal Bebas Beberapa Kecambah dari Biji Tanaman Familia Papilionaceae. *Jurnal Farmasi Indonesia*. 2 (2): 53-61.