

**PROFIL KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS (KLT) DAN  
AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAUN PILADANG  
(*Solenostemon scutellarioides* (L.) Codd)**

**SKRIPSI**



**Oleh :**

**EFI RIYANTO**  
**NIM : 1004106**

**PROGRAM STUDI S1 FARMASI  
SEKOLAH TINGGI FARMASI INDONESIA  
PERINTIS PADANG  
2019**

## PERNYATAAN ORISINALITAS DAN PENYERAHAN HAK CIPTA

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Efi Riyanto

NIM : 1004106

Judul : **Profil Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Dan Aktivitas Antioksidan Daun Piladang (*Solenostemon scutellarioides* (L.) Codd)**

Dengan ini menyatakan bahwa :

1. Skripsi yang saya tulis merupakan hasil karya saya sendiri, terhindar dari unsur plagiarisme dan data beserta seluruh isi skripsi tersebut adalah benar adanya
2. Saya mnyerahkan hak cipta dari skripsi tersebut Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia Perintis Padang untuk dapat dimanfaatkan dalam kepentingan akademis

Padang, Februari 2019

Efi Riyanto

**Lembar Pengesahan Skripsi**

Dengan ini dinyatakan bahwa :

Nama : Efi Riyanto

NIM : 1004106

Judul : **Profil Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Dan Aktivitas Antioksidan Daun Piladang (*Solenostemon scutellarioides* (L.) Codd)**

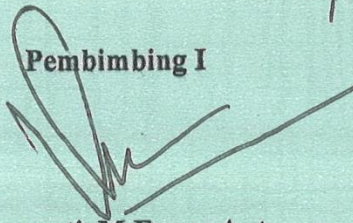
Telah diuji dan disetujui skripsinya sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi (S.Farm) melalui ujian sarjana yang diadakan pada tanggal 18 Februari 2019 berdasarkan ketentuan yang berlaku.

**Ketua Sidang**



**Revi Yenti, M.Si, Apt**

**Pembimbing I**



**Verawati, M.Farm, Apt**

**Anggota Penguji I**



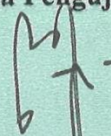
**Sanubari Relatob, M.Farm, Apt**

**Pembimbing II**



**Mimi Aria, M.Farm, Apt**

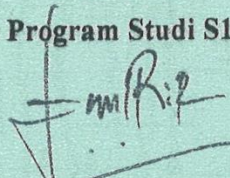
**Anggota Penguji II**



**Noni Rahayu Putri, M.Farm, Apt**

**Mengetahui :**

**Ketua Program Studi S1 Farmasi**



**Farida Rahim, S.Si, M.Farm, Apt**

## **PESRSEMBAHAN**

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

**Kupersembahkan skripsi ini untuk yang selalu bertanya :  
“kapan rampung kuliahmu?”**

**Bapak Ibu tercinta**

**Saudara-saudara kandung ku**

**Keluarga kecil ku**

**Dan untuk semua orang yang kusayangi.....**

**Terima kasih atas doa, motivasi dan bantuan yang telah diberikan.**

## KATA PENGANTAR



Syukur Alhamdulillah, penulis ucapkan kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis masih diberi kekuatan dan kemampuan untuk dapat menyelesaikan penelitian dan menyusun skripsi ini yang berjudul “**Profil Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Dan Aktivitas Antioksidan Daun Piladang (*Solenostemon scutellarioides* (L.) Codd)**”.

Skripsi ini merupakan salah satu persyaratan untuk menyelesaikan pendidikan sarjana strata satu pada Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia Perintis Padang. Dalam menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi ini penulis tidak terlepas dari do’a dan dorongan yang diberikan orang tua, saudara-saudara serta rekan-rekan penulis, baik materil maupun non materil.

Pada kesempatan ini perkenankan penulis mengucapkan terimakasih dan penghargaan yang tak terhingga kepada:

1. Ibu Verawati, M.Farm, Apt. dan Ibu Mimi Aria, M.Farm, Apt. yang telah meluangkan waktunya untuk memberikan bimbingan, arahan, petunjuk, dan nasehat dalam melaksanakan penelitian hingga terselesaikannya skripsi ini.
2. Bapak H. Zulkarni, S.Si, M.M., Apt. selaku ketua Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia Perintis Padang dan Penasehat Akademik yang telah memberikan bimbingan dan nasehat kepada penulis.
3. Bapak dan Ibu Dosen Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia Perintis Padang yang telah mendidik penulis selama ini.

4. Seluruh Staf, Analis dan Karyawan Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia Perintis Padang yang telah banyak memberikan bantuan selama masa perkuliahan dan penyelesaian penelitian ini.

Semoga Allah SWT melimpahkan rahmat dan karunia-Nya kepada semua pihak yang telah membantu penulis. Mudah-mudahan hasil penelitian ini dapat bermanfaat bagi penulis dan pembaca lainnya.

Padang, Febuari2019

Hormat Saya

Penulis

## ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian untuk mengetahui profil Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan aktivitas antioksidan dari ekstrak dan fraksi daun piladang (*Solenostemon scutellarioides* (L.) Codd). Ekstrak diperoleh dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol dan dilanjutkan dengan fraksinasi cair-cair menggunakan pelarut kepolaran yang berbeda sehingga diperoleh fraksi *n*-heksan, etil asetat dan butanol. Profil KLT dari ekstrak dan fraksi-fraksi daun piladang dilakukan menggunakan plat silika gel PF 254 dengan tiga macam eluen A (*n*-heksan : etil asetat 6:4), B (*n*-heksan : etil asetat 3:7) dan C (metanol : etil asetat 5:5). Sementara penampak noda yang digunakan UV<sub>254</sub>, UV<sub>366</sub>, FeCl<sub>3</sub> dan Dragendroff. Aktivitas antioksidan ekstrak dan fraksi-fraksi daun piladang ditentukan dengan metode perangkapan radikal DPPH. Hasil pemeriksaan profil KLT menunjukkan bahwa eluen A dan eluen B memberikan profil yang lebih baik dari jumlah noda yang terlihat, pola pemisahan dan nilai R<sub>f</sub> dibandingkan dengan eluen C. Ekstrak dan fraksi etil asetat serta fraksi butanol menunjukkan adanya kandungan senyawa fenolat, sedangkan fraksi *n*-heksan dan fraksi etil asetat menunjukkan adanya senyawa alkaloid. Kemudian hasil uji aktivitas antioksidan berupa nilai IC<sub>50</sub> menunjukkan aktivitas tertinggi dari fraksi etil asetat (IC<sub>50</sub> = 29,1485 µg/ml), diikuti oleh ekstrak total (IC<sub>50</sub> = 39,0296 µg/ml), fraksi butanol (IC<sub>50</sub> = 66,2133 µg/ml) dan fraksi *n*-heksan (IC<sub>50</sub> = 364,00 µg/ml).

Kata Kunci : *Solenostemon scutellarioides*, Daun piladang, Antioksidan, DPPH, KLT

## ABSTRACT

A study has been conducted to determine the profile of Thin Layer Chromatography (TLC) and antioxidant activity of extract and fraction of poppurene leaves (*Solenostemon scutellarioides* (L.) Codd). The extract was obtained by maceration method using ethanol solvent and continued with liquid-liquid fractionation using different polar solvent with n-hexane fraction, ethyl acetate and butanol. The KLT profile of the extract and fractions of python leaf was carried out using a silica gel plate PF 254 with three kinds of eluent A(n-heksan : etil asetat 6:4), B(n-heksan : etil asetat 3:7) and C(metanol : etil asetat 5:5). While the UV 254, UV 366, FeCl<sub>3</sub> and Dragendroff UV spots were detected. The antioxidant activity of extracts and fractions of pyruval leaves with DPPH radical sequestration method. The KLT profile examination results showed that eluent A and eluent B gave a better profile of the number of visible stains, Rf patterns and values compared with eluent C. Extract and ethyl acetate fraction also the butanol fraction showed the presence of phenolic compounds, while the n-hexane and ethyl acetate fraction shows the presence of alkaloid compounds. Then the results of the antioxidant activity test of IC<sub>50</sub> value showed the highest activity of ethyl acetate fraction (IC<sub>50</sub> = 29.1485 µg / ml), followed by total extract (IC<sub>50</sub> = 39.0296 µg / ml), butanol fraction (IC<sub>50</sub> = 66.2133 µg / ml) and fraction n-hexane (IC<sub>50</sub> = 364.00 µg / ml).

Keywords : *Solenostemon scutellarioides*, Piladang leaf, Antioxidants, DPPH, TLC



## DAFTAR ISI

	<b>Halaman</b>
<b>JUDUL .....</b>	<b>i</b>
<b>PERNYATAAN ORISINALITAS DAN PENYERAHAN HAK CIPTA ..</b>	<b>ii</b>
<b>PENGESAHAN .....</b>	<b>iii</b>
<b>PERSEMBAHAN .....</b>	<b>iv</b>
<b>KATA PENGANTAR .....</b>	<b>v</b>
<b>ABSTRAK .....</b>	<b>vii</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>viii</b>
<b>DAFTAR ISI .....</b>	<b>ix</b>
<b>DAFTAR TABEL .....</b>	<b>xii</b>
<b>DAFTAR GAMBAR .....</b>	<b>xiii</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN .....</b>	<b>xv</b>
<b>BAB I. PENDAHULUAN.....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Perumusan Masalah .....	2
1.3 Tujuan Penelitian .....	3
1.4 Manfaat Penelitian .....	3
<b>BAB II. TINJUAN PUSTAKA .....</b>	<b>4</b>
2.1 Tinjauan Biologi Daun Piladang ( <i>Solenostemon scutellarioides</i> (L.) Codd) .....	4
2.1.1. Klasifikasi ( <i>Solenostemon scutellarioides</i> (L.) Codd) .....	4
2.1.2. Nama Daerah .....	4

2.1.3. Morfologi Tanaman .....	5
2.1.4. Tempat Tumbuh .....	5
2.2 Tinjauan Kimia .....	6
2.2.1 Kandungan Kimia .....	6
2.2.1.1. Flavonoid .....	6
2.2.1.2. Tanin .....	8
2.3 Tinjauan Farmakologi .....	10
2.4 Tinjauan Umum .....	10
2.4.1. Radikal Bebas .....	10
2.4.2. Sumber Radikal Bebas .....	11
2.4.3. Antioksidan .....	11
2.4.4. Metoda Pengujian Aktivitas Antioksidan .....	12
2.4.5. Spektrofotometri UV-Visibel .....	13
2.4.6. Ekstrak .....	15
1. Metoda Ekstraksi .....	16
2. Karakterisasi Ekstrak .....	17
2.4.7. Fraksinasi .....	18
2.4.8. Kromatografi .....	19
1. Kromatografi Lapis Tipis (KLT) .....	19
<b>BAB III. PELAKSANAAN PENELITIAN .....</b>	<b>20</b>
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian .....	20
3.2 Metoda Penelitian .....	20
3.2.1 Alat dan Bahan .....	20

3.2.2	Pengambilan dan Identifikasi Sampel .....	20
3.2.3	Pembuatan Ekstrak Daun Piladang .....	20
3.2.4	Karakterisasi Ekstrak Etanol Daun Piladang .....	21
3.2.5	Fraksinasi Ekstrak Etanol Daun Piladang .....	24
3.2.6	Profil Kromatografi Lapis Tipis .....	24
3.3	Aktivitas Antioksidan Ekstrak dan Fraksi Daun Piladang .....	26
3.3.1	Pembuatan Reagen .....	26
3.3.2	Pembuatan Larutan Uji dari Ekstrak Total dan Fraksi ( <i>n</i> -heksan, Etil Asetat dan Butanol) .....	26
3.3.3	Pengukuran Aktivitas Antioksidan dengan Metoda DPPH .....	26
<b>BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>		<b>30</b>
4.1	Hasil .....	30
4.2	Pembahasan.....	33
<b>BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>		<b>44</b>
5.1	Kesimpulan .....	44
5.2	Saran .....	44
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>		<b>45</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>		<b>47</b>

## DAFTAR TABEL

<b>Tabel</b>	<b>Halaman</b>
1. Hasil Karakterisasi Ekstrak Etanol Daun Piladang ( <i>Solenostemon scutellarioides</i> (L.) Codd) .....	34
2. Data Rendemen Fraksnasi Daun Piladang .....	35
3. Ekstrak Etanol Daun Piladang, Fraksi <i>n</i> -heksan, Fraksi Etil Asetat dan Fraksi Butanol dengan Eluen Etil Asetat : <i>n</i> -heksan pada Perbandingan 6:4 (A) .	35
4. Ekstrak Etanol Daun Piladang, Fraksi <i>n</i> -heksan, Fraksi Etil Asetat dan Fraksi Butanol dengan Eluen <i>n</i> -heksan : Etil Asetat pada Perbandingan 3:7 (B) ..	37
5. Ekstrak Etanol Daun Piladang, Fraksi <i>n</i> -heksan, Fraksi Etil asetat dan Fraksi Butanol dengan eEuen Metanol : Etil Asetat pada Perbandingan 5:5 (C) ..	38
6. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak dan Fraksi-fraksi Daun Piladang	41
7. Kategori Aktivitas Antioksidan Daun Piladang .....	43
8. Kesetaraan Aktivitas Antioksidan Sampel dengan Pembanding .....	43

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Struktur Kimia Flavonoid .....	6
2. Struktur Kimia Tanin .....	8
3. Struktur DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) .....	12
4. Bagan Spektrofotometer UV- Visibel .....	14
5. Tanaman Piladang ( <i>Solenostemon scutellarioides</i> (L.) Codd) .....	48
6. Daun Piladang ( <i>Solenostemon scutellarioides</i> (L.) Codd) .....	48
7. Ekstrak Etanol Daun Piladang, Fraksi <i>n</i> -heksan, Fraksi Etil Asetat dan Fraksi Butanol .....	49
8. Kromatografi Lapis Tipis dengan Eluen Etil Asetat : <i>n</i> -heksan (6:4) .....	50
9. Kromatografi Lapis Tipis dengan Eluen <i>n</i> -heksan : Etil Asetat (3:7) .....	51
10. Kromatografi Lapis Tipis dengan Eluen Metanol : Etil Asetat (5:5) .....	52
11. Spektrofotometer UV-Visibel .....	53
12. Skema Kerja Penyiapan Ekstrak Sampel .....	55
13. Skema Kerja Standarisasi Ekstrak Sampel .....	56
14. Skema Kerja Fraksinasi .....	57
15. Skema Penentuan Panjang Gelombang Maksimum DPPH dengan Spektrofotometer UV- Visibel pada Panjang Gelombang 400-800 nm .....	58
16. Skema Penentuan Aktivitas Antioksidan Vitamin C dengan Spektrofotometri UV- Visibel pada Panjang Gelombang 520 nm .....	59
17. Skema Penentuan Aktivitas Antioksidan Sampel dengan Spektrofotometri UV- Visibel pada Panjang Gelombang 520 nm .....	60
18. Spektrum Panjang Gelombang Maksimum DPPH (35 µg/ml) .....	63
19. Kurva Aktivitas Antioksidan Vitamin C .....	64
20. Kurva Aktivitas Antioksidan Ekstrak Fraksi <i>n</i> -heksan .....	66

21. Kurva Aktivitas Antioksidan Ekstrak Fraksi Etil Asetat .....	68
22. Kurva Aktivitas Antioksidan Ekstrak Fraksi Butanol .....	70
23. Kurva Aktivitas Antioksidan Ekstrak Total .....	72

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Gambar .....	48
2. Surat Identifikasi Tanaman Piladang ( <i>Solenostemon scutllarioides</i> (L.) Codd) .....	54
3. Skema Kerja .....	55
4. Perhitungan Rendemen, Persentase Susut Pengeringan dan Persentase Kadar Abu .....	61
5. Panjang Gelombang Maksimum DPPH Menggunakan Spektrofotometer UV- Visibel .....	63
6. Aktivitas Antioksidan Vitamin C .....	64
7. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Fraksi <i>n</i> -heksan .....	66
8. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Fraksi Etil Asetat .....	68
9. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Fraksi Butanol .....	70
10. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Total .....	72
11. Kesetaraan Aktivitas Antioksidan Masing-masing Ekstrak Etanol Daun Piladang, Fraksi <i>n</i> -heksan, Fraksi Etil Asetat dan Fraksi Butanol .....	74

## BAB I. PENDAHULUAN

### 1.1. Latar Belakang

Dalam kehidupan sehari-hari, kita tidak dapat terbebas dari senyawa radikal bebas. Asap rokok, makanan yang digoreng, dibakar, paparan sinar matahari berlebih, asap kendaraan bermotor, obat-obat tertentu, racun dan polusi udara merupakan beberapa sumber pembentuk senyawa radikal bebas (Pietta, 1999; Wijaya, 1996). Radikal bebas merupakan salah satu bentuk oksidan, yaitu berupa senyawa yang memiliki elektron yang tidak berpasangan. Tingginya kadar radikal bebas dalam tubuh dapat memicu munculnya berbagai penyakit degeneratif seperti jantung koroner, katarak, gangguan kognisi dan kanker (Winarsi, 2007).

Manusia telah memiliki sistem pertahanan terhadap oksidan yang berasal dari dalam tubuh ataupun dari luar berupa diet. Pertahanan dari dalam tubuh seperti enzim-enzim peroksidase, katalase, glutathione, histidin-peptidin seringkali masih kurang akibat pengaruh lingkungan dan diet yang buruk (Pietta, 1999). Pada kondisi ini manusia membutuhkan senyawa antioksidan yang diperoleh dari makanan. Berbagai bukti ilmiah menunjukkan bahwa resiko penyakit kronis akibat senyawa radikal bebas dapat dikurangi dengan memanfaatkan peran senyawa antioksidan. Berbagai tumbuhan obat tradisional banyak mengandung metabolit sekunder seperti fenolat, flavonoid, karoten, vitamin yang berkhasiat sebagai antioksidan (Prakash 2001, Okawa *dkk*, 2001).

Piladang (*Solenostemon scutellarioides* (L.) Codd) merupakan tanaman obat asli Indonesia yang digunakan untuk mengobati berbagai penyakit seperti diare, bisul, infeksi telinga, wasir, batuk, penetralisir, terapi untuk penyakit jantung, menghilangkan gumpalan darah, obat cacing dan penambah nafsu makan (Basrah,



1995). Didalam daun piladang mengandung senyawa tanin. Tanin merupakan senyawa aktif metabolit sekunder yang mampu menghambat radikal bebas. Selain sebagai antioksidan, tanin juga mempunyai aktivitas sebagai astringen, antiinflamasi, antibakteri, antitoksik dan antiseptik (Dalimartha, 2008; Ridwan, 2006; Syamsuhidayat *dkk*, 1991).

Beberapa penelitian menggunakan bahan daun piladang (*Solenostemon scutellarioides* (L.) Codd) sebagai bahan uji untuk penentuan aktivitas antibakteri (Mpila *dkk*, 2012), antimalaria (Lisdawati *dkk*, 2008) dan anthelmintik (Ridwan, 2006). Piladang memiliki kandungan kimia seperti minyak atsiri, fenol, tanin, lemak, phytosterol, kalsium oksalat, dan peptik substans. Komposisi kandungan kimia yang bermanfaat antara lain juga alkaloid, etil salisilat, metal eugenol, timol karvakrol dan mineral (Dalimartha, 2008).

Berdasarkan penelusuran literatur belum ada penelitian mengenai komponen fitokimia dan antioksidan dari daun piladang (*Solenostemon scutellarioides* (L.) Codd), maka pada penelitian ini diperiksa profil kromatografi lapis tipis dan aktivitas antioksidan ekstrak dan fraksi daun piladang (*Solenostemon scutellarioides* (L.) Codd). Aktivitas antioksidan invitro ditentukan dengan metode penangkapan radikal DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil).

## **1.2. Perumusan Masalah**

1. Bagaimana profil kromatografi lapis tipis fraksi daun piladang (*Solenostemon scutellarioides* (L.) Codd)?
2. Apakah ekstrak dan fraksi daun piladang (*Solenostemon scutellarioides* (L.) Codd) memiliki aktivitas antioksidan?

### **1.3. Tujuan Penelitian**

Penelitian ini bertujuan :

1. Mengetahui profil KLT ekstrak dan fraksi-fraksi daun piladang (*Solenostemon scutellarioides* (L.) Codd).
2. Mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak dan fraksi daun piladang (*Solenostemon scutellarioides* (L.) Codd).

### **1.4. Manfaat Penelitian**

1. Dapat mengetahui pengaruh ekstrak daun piladang yang mempunyai aktivitas sebagai antioksidan sehingga dapat digunakan oleh masyarakat sebagai obat.
2. Dapat meningkatkan nilai tambah daun piladang sebagai obat bahan alam.
3. Aplikasi ilmu kefarmasian bagi peneliti sendiri.

## BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1. Tinjauan Biologi Daun Piladang (*Solenostemon scutellarioides* (L.) Codd)

#### 2.1.1. Klasifikasi (*Solenostemon scutellarioides* (L.) Codd) (Singh, 2003)

Tanaman piladang (*Solenostemon scutellarioides* (L.) Codd) diklasifikasikan sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Devisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Sub kelas	: Lamiadae
Ordo	: Lamiales
Family	: Lamiaceae
Genus	: <i>Plectranthus</i> / <i>Coleus</i> / <i>Solenostemon</i>
Spesies	: <i>Solenostemon scutellarioides</i> (L.) Codd.
Sinonim	: <i>Coleus scutellarioides</i> (L.) Benth., <i>Coleus atropurpureus</i> (L.) Benth., <i>Plectranthus scutellarioides</i> (L.) Benth.

#### 2.1.2. Nama Daerah

Tumbuhan ini dikenal masyarakat Indonesia dengan nama daerah yaitu : si gresing (batak), adang-adang (Palembang), miana, piladang (sumbar), jawer kotok (sunda), iler, kentangan (jawa), ati-ati, saru-saru (bugis), majana (Madura) (Dalimartha, 2008).

#### 2.1.3. Morfologi Tanaman

Tanaman piladang memiliki batang herba, tegak atau berbaring pada pangkalnya dan merayap tinggi berkisar 30-150 cm, dan termasuk kategori tumbuhan basah yang batangnya mudah patah. Daun tunggal, helaian daun berbentuk hati, pangkal membulat atau melekok menyerupai bentuk jantung dan setiap tepiannya dihiasi oleh lekuk-lekuk tipis yang bersambungan dan didukung tangkai daun dengan panjang tangkai 3-4 cm yang memiliki warna beraneka ragam dan ujung meruncing dan tulang daun menyirip berupa alur. Batang bersegi empat dengan alur yang agak dalam pada masing-masing sisinya, berambut, percabangan banyak, berwarna ungu kemerahan. Permukaan daun agak mengkilap dan berambut halus panjang dengan panjang 7-11 cm, lebar 3-6 cm berwarna ungu kecoklatan sampai ungu kehitaman. Bunga berbentuk untaian bunga bersusun, muncul pada pucuk tangkai batang berwarna putih, merah dan ungu. Tumbuhan piladang memiliki aroma bau yang khas dan rasa yang agak pahit, sifatnya dingin. Buah keras berbentuk seperti telur dan licin. Jika seluruh bagian diremas akan mengeluarkan bau yang harum. Untuk memperbanyak tanaman ini dilakukan dengan cara setek batang dan biji (Yuniarti, 2008).

#### **2.1.4. Tempat Tumbuh**

Tanaman piladang tumbuh subur di daerah dataran rendah sampai ketinggian 1500 meter diatas permukaan laut dan merupakan tanaman semusim. Umumnya tumbuhan ini ditemukan di tempat lembab dan terbuka seperti pematang sawah, tepi jalan pedesaan di kebun-kebun sebagai tanaman liar atau tanaman obat (Yuniarti, 2008).

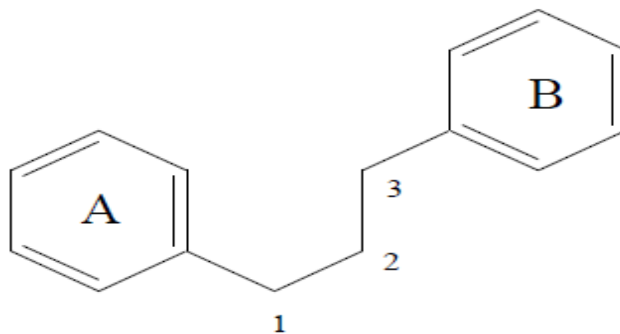
## **2.2. Tinjauan Kimia**

### 2.2.1. Kandungan Kimia

Herba tanaman piladang yang memiliki sifat kimiawi harum, berasa agak pahit, dingin, memiliki kandungan kimia sebagai berikut : daun dan batang mengandung minyak atsiri, fenol, tanin, lemak, phytosterol, kalsium oksalat, dan tanin. Komposisi kandungan kimia yang bermanfaat antara lain juga alkaloid, etil salisilat, metal eugenol, timol karvakrol, mineral (Dalimartha, 2008).

#### 2.2.1.1. Flavonoid

##### a. Monografi



**Gambar 1. Struktur kimia flavonoid (C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>) (Achmad, 1986)**

Flavonoid merupakan salah satu metabolit sekunder yang terdapat pada tanaman hijau. Flavonoid terdapat dalam semua bagian tumbuhan seperti batang, daun, bunga, buah dan akar. Flavonoid mempunyai kerangka dasar karbon yang terdiri dari 15 atom karbon, yang tersusun dalam konfigurasi C<sub>6</sub>C<sub>3</sub>C<sub>6</sub>. Terdiri dari 2 cincin aromatik yang dihubungkan oleh tiga buah karbon yang dapat atau tidak membentuk cincin ketiga.

Flavonoid merupakan suatu senyawa polar karena mempunyai sejumlah gugus hidroksil atau gugus gula, sehingga akan larut dalam pelarut polar seperti metanol, etanol, butanol dan air. Dengan adanya gula yang terikat pada flavonoid ini, maka cenderung menyebabkan flavonoid itu lebih mudah larut dalam air, dan

demikian campuran pelarut diatas dengan air merupakan pelarut yang baik untuk glikosidanya (Harbone, 1987; Markham, 1988).

#### **b. Isolasi**

Proses isolasi diawali dengan ekstraksi. Ekstraksi merupakan pemisahan bagian aktif dari tumbuhan dari senyawa inaktif atau inert menggunakan pelarut yang sesuai prosedur tertentu. Ekstraksi dapat dilakukan secara maserasi (proses ekstraksi dengan perendaman simplisia menggunakan pelarut tertentu dengan beberapa kali pengadukan pada temperatur suhu kamar). Selanjutnya ekstrak dipisahkan dan dibebaskan dari senyawa-senyawa non polar dengan memakai heksan atau kloroform. Ekstrak yang mengandung flavonoid difraksinasi dengan pelarut yang cocok (Harbone, 1987).

#### **c. Identifikasi**

- ✓ Pemerian

    bau aromatik, rasa pahit

- ✓ Pemeriksaan pendahuluan

    Pada ekstrak etanol tambahkan 5 – 10 ml air suling dan kloroform (1:1), lalu kocok kuat dan biarkan selama beberapa waktu tertentu sampai terbentuk 2 lapisan. Letakkan 1 – 2 tetes lapisan air pada plat tetes, tambahkan sedikit serbuk Mg dan beberapa tetes asam klorida pekat, timbulnya warna kuning orange sampai merah menunjukkan adanya senyawa flavonoid.

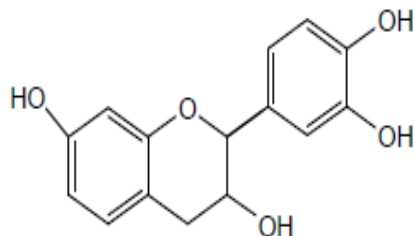
#### **d. Penetapan kadar**

Sebanyak 0,5 ml ekstrak ditambahkan 1,5 ml metanol, 0,1 ml aluminium klorida 10%, 0,1 ml natrium asetat 1 M dan 2,8 ml air suling. Selanjutnya larutan di homogenkan. Biarkan selama 30 menit, serapan di ukur pada panjang gelombang maksimum dengan menggunakan spektrofotometer UV-Visibel (Harbone, 1987).

### 2.2.1.2. Tanin

#### a. Monografi

Tanin merupakan salah satu jenis senyawa yang termasuk ke dalam golongan polifenol dengan rasa sepat. Senyawa tanin ini banyak dijumpai pada tumbuhan. Tanin secara umum didefinisikan sebagai senyawa polifenol yang memiliki berat molekul cukup tinggi (lebih dari 1000) dan dapat membentuk kompleks dengan protein (Harbone, 1987).



**Gambar 2. Struktur Kimia Tanin (Robinson, 1995)**

Pemerian : Serpihan mengkilat berwarna kekuningan sampai coklat muda, atau serbuk amorf. Tidak berbau atau sedikit berbau khas.

Kelarutan : Sangat mudah larut dalam air dan dalam etanol, kurang larut dalam etanol mutlak, larut dalam aseton, praktis tidak larut dalam benzena, dalam kloroform dan dalam eter.

Sisa pemijaran : Tidak lebih dari 0,1 %.

Susut pengeringan : Tidak lebih dari 12% (Depkes RI, 1995).

#### **b. Isolasi**

Isolasi zat dari bahan alam dimulai dengan metode ekstraksi dan fraksinasi. Sampel diekstraksi dengan pelarut polar selama beberapa hari dengan cara dimaserasi, selanjutnya dilakukan pemekatan ekstrak dengan menggunakan *rotary evaporator* sehingga didapatkan ekstrak kental. Ekstrak kental tersebut selanjutnya difraksinasi dengan menggunakan beberapa pelarut. Hasil fraksinasi kemudian dianalisa menggunakan metode kromatografi (Harbone, 1987).

#### **c. Identifikasi**

Sebanyak 0,5 g ekstrak disaring dengan 10 ml air suling lalu dipanaskan, disaring. Filtratnya diencerkan dengan air sampai tidak berwarna. Larutan diambil sebanyak 2 ml dan ditambahkan 1-2 tetes pereaksi besi (III) klorida 1%, jika terjadi warna biru atau hijau kehitaman menunjukkan adanya tanin (Depkes RI, 1979).

#### **d. Penetapan kadar**

Sebanyak 0,5 ml larutan ekstrak dimasukkan dalam vial kemudian tambahkan 5 mL pereaksi Folin Ciocalteu yang sudah diencerkan dengan aquadest 1:10. Kemudian tambahkan 4 ml larutan natrium karbonat 1 M, kocok sampai homogen, biarkan selama 15 menit. Diukur serapannya pada panjang gelombang maksimum dengan spektrofotometer Uv-Visibel (Pourmorad, 2006).

### **2.3. Tinjauan Farmakologi**

Penggunaan tanaman piladang secara tradisonal banyak dimanfaatkan sebagai obat diantaranya : wasir, peluruh haid, penambah nafsu makan, batuk



berdarah, diare, bisul, kencing manis, borok, luka, keputihan, sakit kepala, nyeri lambung, infeksi telinga, cacar, diuretik dan pembunuh cacing (vermisida). Tanaman ini juga memiliki aktivitas : antiinflamasi, antibakteri, antitoksik, dan antiseptik (Dalimartha, 2008).

## **2.4. Tinjauan Umum**

### **2.4.1. Radikal Bebas**

Radikal bebas adalah atom atau senyawa yang kehilangan pasangan elektronnya, sebagai contoh, atom oksigen ( $O_2$ ) yang normal mempunyai 4 pasangan elektron, bila terjadi reaksi dalam tubuh yang berlebihan maka akan terjadi perampasan elektron oksigen tersebut sehingga menjadi tidak berpasangan dan atom oksigen menjadi radikal bebas yang berusaha mengambil elektron dari senyawa lain (Kumalaningsih, 2006).

Proses metabolisme sehari-hari merupakan proses biokimia yang menyebabkan terbentuknya radikal bebas yang bersifat sementara karena dengan cepat diubah menjadi senyawa yang tidak berbahaya bagi tubuh. Proses metabolisme itu berawal dari masuknya oksigen ke dalam sel-sel tubuh yang berfungsi untuk mengubah nutrisi menjadi energi. Dalam kondisi normal sel memiliki molekul dengan pasangan elektron yang lengkap, tetapi setelah bereaksi dengan oksigen, molekul akan teroksidasi dan menyebabkan hilangnya pasangan elektron, sehingga molekul menjadi tidak stabil dan ketidakstabilan inilah yang dikenal dengan radikal bebas. Jadi radikal bebas adalah produk alami hasil metabolisme sel (Kumalaningsih, 2006).

Radikal bebas dapat masuk dan terbentuk ke dalam tubuh melalui pernafasan, kondisi lingkungan yang tidak sehat, dan makanan berlemak,

sehingga menyebabkan berbagai penyakit antara lain penyakit jantung koroner, penyakit kanker, penyakit katarak, aterosklerosis, diabetes, ginjal, dan proses penuaan (Kumalaningsih, 2006).

#### **2.4.2. Sumber Radikal Bebas (Setiati, 2003)**

Sumber radikal bebas yang ada dalam tubuh manusia dapat berasal dari dalam tubuh (endogen) dan dari luar tubuh (eksogen), yaitu :

##### **1. Endogen**

Radikal bebas dapat terbentuk karena respon normal dari rantai biokimia dalam tubuh, dimana radikal bebas tersebut akan mempengaruhi sel-sel tubuh. Radikal ini merupakan hasil samping dari proses oksidasi atau pembakaran sel yang berlangsung pada respirasi atau metabolisme sel. Dalam jumlah tertentu radikal ini dapat diredam oleh sistem antioksidan alami yang ada di dalam tubuh.

##### **2. Secara eksogen**

Radikal bebas yang dibentuk dari proses luar tubuh, bisa disebabkan karena obat-obatan, radiasi sinar matahari, asap rokok, asap kendaraan bermotor, gas, pestisida dan zat tambahan makanan.

#### **2.4.3. Antioksidan**

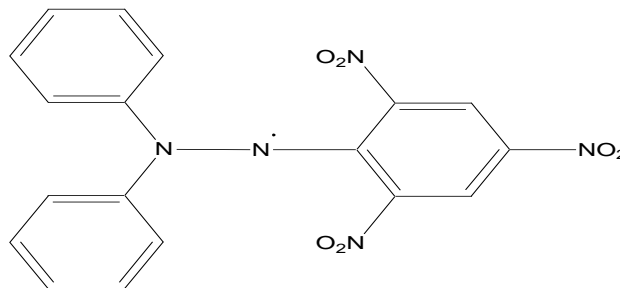
Antioksidan adalah senyawa-senyawa yang mampu menghilangkan, membersihkan, menahan pembentukan ataupun memadukan efek spesies oksigen reaktif (Lautan,1997). Penggunaan senyawa antioksidan juga anti radikal saat ini semakin meluas seiring dengan semakin besarnya pemahaman masyarakat tentang peranannya dalam menghambat penyakit degeneratif seperti penyakit jantung, arteriosklerosis, kanker, serta gejala penuaan dini. Masalah-masalah ini berkaitan dengan kemampuan antioksidan untuk bekerja sebagai inhibitor (penghambat)

reaksi oksidasi oleh radikal bebas reaktif yang menjadi salah satu pencetus penyakit-penyakit di atas (Tahir *dkk*, 2003).

Tubuh manusia menghasilkan senyawa antioksidan, tetapi jumlahnya sering kali tidak cukup untuk menetralkan radikal bebas yang masuk ke dalam tubuh (Sofia, 2006; Hernani dan Rahardjo, 2005).

#### 2.4.4. Metoda Pengujian Aktifitas Antioksidan

Metoda yang umum digunakan untuk menguji aktivitas antioksidan suatu bahan adalah dengan menggunakan radikal bebas *diphenyl picrylhydrazyl* (DPPH). DPPH adalah radikal bebas yang bersifat stabil dan beraktifitas dengan cara mendelokasi elektron bebas pada suatu molekul, sehingga molekul tersebut tidak reaktif sebagaimana radikal bebas yang lain. Proses delokalisasi ini ditunjukkan dengan adanya warna ungu (violet) pekat yang dapat dikarakterisasi pada pita absorbansi. DPPH adalah radikal bebas yang diperdagangkan, berbentuk serbuk violet kehitaman, cepat teroksidasi oleh temperatur dan udara, mudah larut dalam metanol (Molyneux, 2004).



**Gambar 3. Struktur DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) (Molyneux, 2004).**

- BM = 394,3 g/mol
- Pemeriaan = Serbuk warna violet kehitaman
- Kelarutan = Mudah larut dalam metanol

Penyimpanan = Freezer atau suhu di bawah 0°C

Pengukuran aktivitas antioksidan dengan metoda DPPH menggunakan prinsip spektrofotometri. Senyawa DPPH (dalam metanol/ etanol) berwarna ungu tua terdeteksi pada panjang gelombang dengan sinar tampak sekitar 517 nm. Suatu senyawa dikatakan dapat memiliki aktivitas antioksidan apabila senyawa tersebut mampu mendonorkan atom hidrogennya untuk berikatan dengan DPPH membentuk DPPH tereduksi, ditandai semakin hilangnya warna ungu (menjadi kuning pucat). Prinsip penurunan nilai absorbansi digunakan untuk mengetahui kapasitas antioksidan suatu senyawa (Molyneux, 2004).

#### **2.4.5. Spektrofotometri UV-Visibel (Dachriyanus, 2004)**

Spektrofotometri UV-Visibel merupakan pengukuran panjang gelombang dan intensitas sinar ultraviolet dan cahaya tampak yang diabsorpsi oleh sampel. Sinar ultraviolet dan cahaya tampak memiliki energi yang cukup untuk mempromosikan elektron pada kulit terluar ke tingkat energi yang lebih tinggi. Spektroskopi UV-Visibel biasanya digunakan untuk menentukan jenis kromofor, ikatan rangkap terkonjugasi, dan ausokrom dari suatu senyawa organik, menjelaskan informasi dari struktur berdasarkan panjang gelombang maksimum dari suatu senyawa serta mampu menganalisa senyawa organik secara kuantitatif dengan menggunakan hukum Lambert-Beer.

Hukum Lambert-Beer adalah hubungan linearitas antara absorban dengan konsentrasi larutan analit. Biasanya hukum Lambert-Beer ditulis dengan :

$$A = \epsilon \cdot b \cdot C$$

Keterangan :

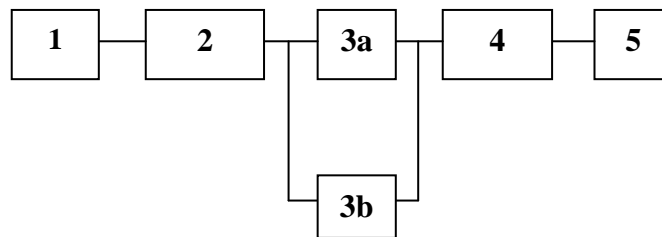
A = Absorban

$\epsilon$  = Koefisien ekstingsi molar ( $M^{-1}cm^{-1}$ )

b = Tebal kuvet (cm)

C = Konsentrasi (M)

Alat spektrofotometer dapat dibagi atas beberapa bagian :



**Gambar 4. Bagan Spektrofotometer UV-Visibel**

Keterangan :

1. Sumber Cahaya

Mendapatkan pengukuran absorban yang cocok, sumber cahaya hendaknya menghasilkan sinar dengan kekuatan yang cukup kontiniu dan merata pada panjang gelombang yang dikehendaki dan stabil selama waktu yang diperlukan. Sumber cahaya biasanya digunakan lampu hidrogen atau deuterium untuk pengukuran UV dan lampu tungsten untuk pengukuran pada cahaya tampak.

2. Monokromator

Sumber cahaya yang bisa digunakan memancarkan sinar kontiniu, mempunyai panjang gelombang yang bersifat polikromatis menjadi sinar monokromatis.

3. a. Kuvet sampel, b. Kuvet Blanko

Kuvet dibuat sedemikian rupa sehingga dapat meneruskan sinar yang digunakan dan dinding sel yang akan ditentukan harus tegak lurus terhadap cahaya yang masuk.

#### 4. Detektor

Detektor yaitu suatu alat yang dapat merubah energi sinar menjadi energi listrik dengan menyerap energi (foton) sinar yang jatuh dirubah menjadi besaran yang dapat diukur. Pada alat spektrofotometer sebagai detektor digunakan tabung foto hampa (foto tube).

#### 5. Meter / Rekorder

Meter atau rekorder adalah suatu alat untuk membaca isyarat dari detektor untuk menganalisa kimia secara spektrofotometri. Pengaruh berkurangnya identitas sinar disebabkan oleh pemantulan pada dinding kuvet, dapat dihilangkan dengan pemakaian sel pembanding yang sama disebut blanko.

### **2.4.6. Ekstrak**

Menurut Farmakope Indonesia Edisi IV, ekstrak adalah sediaan kental yang diperoleh dengan mengekstraksi senyawa aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Depkes RI, 1995).

#### **1. Metoda Ekstraksi**

Ekstraksi merupakan suatu proses penarikan senyawa kimia dari tumbuh-tumbuhan, hewan dan lain-lain dengan menggunakan pelarut tertentu (Djamal, 2010). Hal yang penting dalam teknologi farmasi adalah cara mengekstraksi. Jenis

ekstraksi dan cairan mana yang sebaiknya digunakan, sangat tergantung dari kelarutan bahan kandungan dan stabilitasnya. Metode dasar dari ekstraksi simplisia adalah maserasi dan perkolasi. Biasanya metode ekstraksi dipilih berdasarkan beberapa faktor seperti sifat dari bahan mentah simplisia dan daya penyesuaian dengan tiap macam metode ekstraksi dan kepentingan dalam memperoleh ekstrak yang sempurna atau mendekati sempurna dari simplisia (Voigt, 1999; Ansel, 1989).

Maserasi adalah proses ekstraksi simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan. Secara teknologi termasuk ekstraksi dengan prinsip metode pencapaian konsentrasi pada keseimbangan. Simplisia yang akan diekstraksi ditempatkan pada wadah atau bejana yang bermulut lebar bersama larutan penyari yang telah ditetapkan. Bejana ditutup rapat kemudian dikocok berulang-ulang sehingga memungkinkan pelarut masuk ke seluruh permukaan simplisia (Depkes RI, 2000; Ansel, 1989).

Rendaman tersebut disimpan terlindung dari cahaya langsung. Waktu maserasi umumnya 5 hari, setelah waktu tersebut keseimbangan antara bahan yang diekstraksi pada bagian dalam sel dengan luar sel telah tercapai. Dengan pengocokan dijamin keseimbangan konsentrasi bahan ekstraksi lebih cepat dalam cairan. Keadaan diam selama maserasi menyebabkan turunnya perpindahan bahan aktif. Ekstrak dipisahkan dari ampasnya dengan menapis atau menyaring dimana ampas yang telah dibilas bebas dari ekstrak dengan penambahan pelarut melalui ayakan atau saringan ke dalam seluruh ekstrak dalam wadahnya (Voigt, 1995; Ansel, 1989).

## **2. Karakterisasi Ekstrak**

### **a. Organoleptis**

Pemeriksaan organoleptis dengan menggunakan pancaindera yang mendeskripsikan bentuk, warna, bau, dan rasa. Tujuan dari parameter ini adalah untuk pengenalan awal sederhana dan objektif (Depkes RI, 2000).

### **b. Susut Pengeringan**

Susut pengeringan adalah pengukuran sisa zat setelah pengeringan pada temperatur 105°C selama 30 menit atau sampai tercapainya berat konstan, yang dinyatakan sebagai nilai persen (%). Dalam hal khusus (jika bahan tidak mengandung minyak menguap/atsiri dan sisa pelarut organik menguap) identik dengan kadar air, yaitu kandungan air karena berada di atmosfer atau di lingkungan udara terbuka. Pengukuran ini akan memberikan batasan maksimal (rentang) tentang besarnya senyawa yang hilang pada proses pengeringan (Depkes RI, 2000).

### **c. Kadar Abu**

Pengukuran kadar abu akan memberikan gambaran kandungan mineral internal dan eksternal yang berasal dari proses awal sampai terbentuknya ekstrak. Prinsip penentuan kadar abu adalah pemanasan pada temperatur dimana senyawa organik dan turunannya terdestruksi dan menguap, sehingga tinggal unsur mineral dan anorganik. Pengukuran ini terdiri dari penetapan kadar abu total dan penetapan kadar abu yang tidak larut dalam asam (Depkes RI, 2000).

### **d. Skrining Fitokimia.**



Skrining fitokimia adalah pemeriksaan kandungan kimia secara kualitatif untuk mengetahui golongan senyawa yang terkandung dalam suatu tumbuhan. Pemeriksaan diarahkan pada senyawa metabolit sekunder yang memiliki khasiat bagi kesehatan, seperti alkaloid, senyawa fenol, flavonoid, glikosida, terpenoid, steroid, tannin, dan saponin (Harborne, 1987).

#### **2.4.7. Fraksinasi (Djamal, 2010)**

Fraksinasi adalah proses untuk memisahkan kandungan senyawa bahan alam atas perbedaan sifat kelarutannya dalam kondisi yang ditentukan. Umumnya senyawa bahan alam dapat dibedakan atas 3 kelompok : senyawa non-polar seperti lemak/ lilin, terpen dan steroid; senyawa semi-polar seperti kumarin, fenolik dan alkaloid; senyawa polar seperti flavonoid glikosida, alkaloid kuartener, dll.

Tujuan utama fraksinasi adalah untuk menyederhanakan komposisi dan homogenitas sifat zat sehingga lebih mudah dimurnikan atau diisolasi menjadi senyawa tunggal atau zat murni.

Untuk proses fraksinasi berdasarkan tingkat kepolaran umumnya digunakan pelarut: *n*-heksan untuk menarik zat yang bersifat non-polar: etil asetat atau kloroform untuk memisahkan senyawa yang bersifat semi-polar dan senyawa yang termasuk kelompok polar difraksinasi dengan butanol. Proses fraksinasi harus berurutan dari non-polar sampai dengan polar dan tidak boleh dibalik. Masing-masing fraksi hasil fraksinasi kemudian dapat diperlakukan khusus atau langsung dikeringkan dengan bantuan alat destilasi vakum atau *rotary evaporator*.

#### **2.4.8. Kromatografi ( Djamal, 2010)**

Kromatografi yaitu suatu teknik yang digunakan untuk memisahkan komponen-komponen dalam campuran (bahan alam) yang cukup rumit. Semua metoda kromatografi didasarkan atas pembagian zat yang harus dipisahkan kepada dua jenis fasa. Fasa yang pertama disebut dengan fasa tetap (diam) dan fasa yang kedua disebut fasa mobil (gerak) karena bergerak melalui fasa yang pertama.

### **1. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)**

Kromatografi lapis tipis merupakan metode pemisahan yang paling cocok untuk analisis kimia bahan alam di laboratorium, karena hanya memerlukan investasi kecil untuk alat-alat, waktu singkat, cuplikan sedikit (jumlah kecil), ruangan kecil dan penanganan sederhana. Disamping itu tidak mungkin terdapat hasil palsu yang disebabkan oleh komponen sekunder.

Kromatografi lapis tipis adalah metode fisikokimia, yang menyangkut fase diam (yaitu lapisan yang memisahkan terdiri dari butir-butir bahan pemisah, yang ditempatkan pada penyangga berupa pelat gelas, logam atau lapisan yang cocok), fase gerak (larutan pengembang) dan penampakan bercak (untuk menampakkan atau mendeteksi senyawa yang tidak berwarna). Untuk campuran senyawa yang belum diketahui fase diam dan fase geraknya harus dipilih dengan tepat untuk mendapatkan pemisahan yang baik.

Penilaian kromatogram :

$$Rf = \frac{\text{jarak titik pusat bercak dari titik awal}}{\text{jarak garis depan dari titik awal}}$$

## **BAB III. PELAKSANAAN PENELITIAN**

### **3.1. Waktu dan Tempat Penelitian**

Penelitian ini telah dilaksanakan selama  $\pm$  3 bulan dari bulan Februari sampai April 2015 di Laboratorium Kopertis Wilayah X Padang, Sumatera Barat.

## **3.2. Metoda penelitian**

### **3.2.1. Alat dan Bahan**

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah: timbangan digital, seperangkat alat *rotary evaporator*, desikator, corong pisah, gelas ukur, penjepit, tabung reaksi, spatel, pinset, pipet tetes, labu ukur, kaca arloji, pengukur waktu, oven, beaker glass, pipa kapiler, kertas saring whatman, erlenmeyer, blender, botol maserasi, seperangkat alat KLT, lampu UV (254/366nm) dan spektrofotometer UV-Visibel.

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah: daun piladang (*Solenostemon scutellarioides* (L.) Codd), DPPH, metanol, *n*-heksan, etil asetat, butanol, FeCl<sub>3</sub>, vitamin C, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 10%, Dragendorff, plat KLT silica gel PF 254, etanol 70%, dan aquadest.

### **3.2.2. Pengambilan dan Identifikasi Sampel**

Sampel yang diuji dalam penelitian ini adalah daun piladang (*Solenostemon scutellarioides* (L.) Codd) yang di ambil di kota Padang Panjang.

Identifikasi sampel dilakukan di Herbarium Universitas Andalas Jurusan Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Andalas Padang.

### **3.2.3. Pembuatan Ekstrak Daun Piladang**

Sampel yang diambil dari tanaman piladang (*Solenostemon scutellarioides* (L.) Codd) adalah daunnya, lalu dibersihkan dan dikering anginkan kemudian di buat serbuk dengan menggunakan blender, selanjutnya letakkan didalam wadah dan ditimbang. Sampel yang telah ditimbang 240 g dimasukkan kedalam botol

maserasi dan ditambahkan etanol 70% sampai terendam. Biarkan ditempat gelap selama 5 hari sambil sesekali diaduk. Pisahkan hasil maserasi dengan penyaring menggunakan kapas. Ulangi maserasi sampai 3 kali sehingga didapatkan hasil maserasi yang agak bening. Gabungan ekstrak etanol diuapkan *rotary evaporator* sehingga didapatkan ekstrak kental.

#### **3.2.4. Karakterisasi Ekstrak Etanol Daun Piladang**

##### **a. Organoleptis (Depkes RI, 2000)**

Pemeriksaan organoleptis dilakukan dengan menggunakan pancaindera yang mendeskripsikan bentuk, warna, bau, dan rasa.

##### **b. Analisis Randemen**

Randemen didapat dari berat ekstrak total dibagi berat sampel kemudian dikali 100%. Dengan menggunakan rumus sebagai berikut :

$$\% \text{ Randemen} = \frac{\text{Berat Ekstrak}}{\text{Berat Sampel}} \times 100\%$$

##### **c. Susut Pengerinan (Depkes RI, 1980)**

Ditimbang 1 g ekstrak dalam krus porselen bertutup yang sebelumnya telah dipanaskan pada suhu 105<sup>0</sup> C selama 30 menit dan telah ditara. Kemudian dengan perlahan krus digoyang agar ekstrak merata. Krus dimasukkan kembali ke dalam oven dengan membuka tutupnya. Krus berisi ekstrak dipanaskan pada suhu 105 °C selama 1 jam. Setelah itu dikeluarkan dan didinginkan dalam desikator lalu ditimbang. Dilakukan pengulangan dengan cara yang sama dengan di atas sampai diperoleh berat konstan.

$$\% \text{ Susut pengerinan} = \frac{(B-A) - (C-A)}{(B-A)} \times 100\%$$

Keterangan:

A = Berat krus kosong

B = Berat krus + sampel sebelum dipanaskan

C = Berat krus + sampel setelah dipanaskan

**d. Kadar Abu (Depkes RI, 1980)**

Timbang seksama 1 sampai 2 g ekstrak dan masukkan ke dalam krus yang telah dipijar dan ditara. Pijarkan perlahan-lahan dalam *furnace* pada suhu 600°C selama 6 jam, dinginkan dalam desikator dan timbang. Kadar abu total dihitung terhadap berat simplisia, dinyatakan dalam % b/b.

$$\% \text{ Kadar abu} = \frac{C-A}{B-A} \times 100\%$$

Keterangan:

A = Berat krus kosong

B = Berat krus + sampel sebelum pemijaran

C = Berat krus + sampel setelah pemijaran

**e. Skrining Fitokimia (Harborne, 1987)**

Pemeriksaan kandungan kimia metabolit sekunder dilakukan terhadap ekstrak daun piladang dimana ditimbang 0,5 g ekstrak kental kemudian ditambahkan masing - masing 5 ml air suling dan kloroform (1:1) kemudian kocok kuat dan biarkan beberapa saat sampai terbentuk dua lapisan, yaitu lapisan air dan lapisan kloroform.

- Lapisan Air

1. Uji flavonoid (metode “Sianidin test”)

Letakkan 1–2 tetes lapisan air pada plat tetes, tambahkan sedikit serbuk logam Mg dan beberapa tetes HCl<sub>(p)</sub>, timbulnya warna kuning-oranye sampai merah menunjukkan adanya senyawa flavonoid.

2. Uji fenolik

Letakkan 1-2 tetes lapisan air pada plat tetes, kemudian tambahkan 1-2 tetes pereaksi FeCl<sub>3</sub>, terbentuknya warna biru menandakan adanya kandungan fenolik.

3. Uji saponin

Lapisan air dimasukkan dalam tabung reaksi kemudian kocok, apabila terbentuk busa yang permanen ( $\pm$  15 menit) menunjukkan adanya saponin.

- Lapisan Kloroform

1. Uji terpenoid dan steroid (metode “Simes”)

Lapisan kloroform disaring dengan norit, hasil saringan di pipet 2-3 tetes dan dibiarkan mengering pada plat tetes, setelah kering di tambahkan 2 tetes asam asetat anhidrat dan 1 tetes asam sulfat pekat (pereaksi Lieberman-Bouchard) jika terbentuk warna merah berarti positif terpenoid dan jika terbentuk warna biru atau hijau berarti positif steroid.

2. Uji alkaloid ( metode “ Culvenore–Firstgerald”)

2-3 tetes lapisan kloroform ditambahkan dengan 10 ml kloroform amoniak dan 1 tetes asam sulfat 2 N, kemudian kocok kuat dan diamkan sampai terbentuk dua lapisan ambil lapisan asam lalu

tambahkan 1-2 tetes pereaksi mayer, reaksi positif alkaloid ditandai dengan adanya kabut putih hingga gumpalan putih.

### **3.2.5. Fraksinasi Ekstrak Etanol Daun Piladang**

Terhadap ekstrak daun piladang (*Solenostemon scutellarioides* (L.) Codd) dilakukan pengelompokan senyawa berdasarkan tingkat kepolaran yang berbeda dengan cara fraksinasi. Ambil 40 g ekstrak diencerkan dengan aquadest 100ml. Kemudian fraksinasi ekstrak dalam aquadest secara bertingkat dengan n-heksan, etil asetat dan butanol (dengan perbandingan 1:1) sehingga masing-masingnya diperoleh fraksi non-polar, semi-polar, dan polar. Masing-masing fraksi diuapkan pelarutnya dengan *rotary evaporator* sehingga diperoleh fraksi kental.

### **3.2.6. Profil Kromatografi Lapis Tipis**

#### **a. Penyiapan Chamber Kromatografi**

Tambahkan masing-masing pada chamber eluen (fase gerak) dengan perbandingan yang sesuai. Tempatkan kertas saring ukuran 10 cm dan lebarnya yang sama dengan lebar chamber kedalam chamber. Tutup kedap chamber dan diamkan hingga kertas saring basah seluruhnya. Kertas saring harus selalu tercelup kedalam larutan pengembang pada dasar chamber.

#### **b. Penyiapan Sampel Ekstrak Daun Piladang**

Siapkan sampel ekstrak kental daun piladang yang sebelumnya difraksinasi berdasarkan tingkat kepolarannya.

#### **c. Pelaksanaan Kromatografi Lapis Tipis**

1. Pada plat KLT silika gel PF 254 dengan ukuran 3x10 cm, batas atas 5 mm dan batas bawah 5 mm dengan jarak elusi 90 mm. Plat KLT dikeringkan dalam oven pada suhu 105<sup>0</sup>C selama 30 menit.
2. Larutan uji yang berupa larutan masing-masing ekstrak dan fraksi-fraksi ditotolkan pipa kapiler pada plat KLT.
3. Kemudian plat dikembangkan dalam chamber yang dijenuhkan terlebih dahulu dengan fase gerak yaitu:
  - A. n-heksan : etil asetat (6:4)
  - B. etil asetat : n-heksan (3:7)
  - C. methanol : etil asetat (5:5)
4. Setelah dikembangkan dengan berbagai fase gerak, plat dilihat dibawah sinar UV 254, sinar UV 366 dan cahaya biasa.
5. Kemudian plat disemprot dengan berbagai jenis larutan penampak noda yaitu FeCl<sub>3</sub>, dan dragendroff.

Amati noda yang terlihat pada KLT ditandai dan didokumentasi kemudian dicatat :

- Hitung Rf

$$R_f = \frac{\text{Jarak yang ditempuh oleh senyawa}}{\text{Jarak yang ditempuh oleh pelarut}}$$

- Hitung jumlah noda tiap fraksi
- Warna noda tiap fraksi

6. Semua plat yang telah dikembangkan dengan berbagai fase gerak didokumentasikan dengan foto digital.

### **3.3. Aktivitas Antioksidan Ekstrak dan Fraksi Daun Piladang**



### **3.3.1. Pembuatan Reagen**

- a. Penyediaan larutan induk asam askorbat 1000 µg/ml sebagai pembanding

Vitamin C ditimbang sebanyak 10 mg dan dilarutkan dengan aquadest di dalam labu ukur 10 ml sampai tanda batas (Keinanen, 1996).

- b. Penyediaan larutan DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) 35 µg/mL  
Sebanyak 10 mg DPPH dilarutkan dengan etanol dalam labu ukur 100 ml sampai tanda batas, lalu dipipet 17,5 ml dan dimasukkan dalam labu ukur 50 ml kemudian tambahkan etanol sampai tanda batas sehingga konsentrasi menjadi 35 µg/ml (Waterhouse, 1999).

### **3.3.2. Pembuatan Larutan Uji dari Ekstrak Total dan Fraksi (*n*-heksan, Etil Asetat dan Butanol)**

Masing-masing ekstrak total, fraksi etil asetat dan fraksi butanol dari daun piladang ditimbang sebanyak 10 mg dan dilarutkan dengan etanol-aquadest (1:1) dalam labu ukur 10 ml. Konsentrasi diperoleh adalah 1000 µg/ml.

Fraksi *n*- heksan ditimbang sebanyak 25 mg dan dilarutkan dengan etanol-aquadest (1:1) dalam labu ukur 25 ml. Konsentrasi diperoleh adalah 1000 µg/ml.

### **3.3.3. Pengukuran Aktivitas Antioksidan dengan Metoda DPPH (Mosquare, *dkk* 2007)**

#### **1. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum DPPH.**

Dipipet sebanyak 4 ml larutan DPPH 35 µg/ml yang baru dibuat, dimasukkan kedalam vial gelap, ditambahkan 2 ml campuran aquadest-etanol (1:1), tutup vial dan biarkan selama 30 menit ditempat yang gelap. Serapan

larutan diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 400-800 nm.

## **2. Penentuan Aktivitas Antioksidan**

### **1. Vitamin C**

Pipet 5 ml larutan induk vitamin C (1000 µg/ml) kemudian dilarutkan dengan aquadest dalam labu ukur 50 ml sampai tanda batas, sehingga didapatkan larutan vitamin C dengan konsentrasi 100 µg/ml. Dari konsentrasi 100 µg/ml dipipet 2, 4, 6, 8, dan 10 ml dimasukkan dalam labu 100 ml kemudian tambahkan aquadest hingga tanda batas sehingga diperoleh konsentrasi 2, 4, 6, 8, 10 µg/ml.

Dipipet sebanyak 2 ml masing-masingnya lalu dimasukkan ke dalam vial, tambahkan 4 ml larutan DPPH. Diamkan selama 30 menit di tempat gelap. Serapan larutan diukur dengan spektrofotometer UV-Visibel pada panjang gelombang maksimum.

### **2. Ekstrak Total**

Pipet 5 ml larutan ekstrak sampel daun piladang (1000 µg/ml) kemudian dilarutkan dengan aquadest dalam labu ukur 50 ml sampai tanda batas, sehingga didapatkan larutan dengan konsentrasi 100 µg/ml. Dari konsentrtasi 100 µg/ml dipipet sebanyak 2,4,6,8 dan 10 ml dan diencerkan dengan etanol-aquadest (1:1) pada labu 10 ml hingga tanda batas sehingga diperoleh konsentrasi 20, 40, 60, 80, 100 µg/ml.

Dipipet sebanyak 2 ml masing-masingnya lalu dimasukkan ke dalam vial, ditambahkan 4 ml larutan DPPH. Didiamkan selama 30 menit di tempat gelap. Serapan larutan diukur dengan spektrofotometer UV-Visibel pada panjang gelombang maksimum.

### 3. Fraksi *n*-heksan

Dari larutan fraksi *n*-heksan (1000 µg/ml) dipipet sebanyak 1,2,3,4 dan 5 ml kemudian diencerkan dengan etanol-aquadest (1:1) pada labu 10 ml hingga tanda batas sehingga diperoleh konsentrasi 100, 200, 300, 400, 500 µg/ml.

Dipipet sebanyak 2 ml masing-masingnya lalu dimasukkan ke dalam vial, ditambahkan 4 ml larutan DPPH. Didiamkan selama 30 menit di tempat gelap. Serapan larutan diukur dengan spektrofotometer UV-Visibel pada panjang gelombang maksimum.

### 4. Fraksi Etil Asetat

Pipet 5 ml larutan fraksi etil asetat (1000 µg/ml) kemudian dilarutkan dengan aquadest dalam labu ukur 50 ml sampai tanda batas, sehingga didapatkan larutan dengan konsentrasi 100 µg/ml. Dari konsentrasi 100 µg/ml dipipet sebanyak 1,2,3,4 dan 5 ml dan diencerkan dengan etanol-aquadest (1:1) pada labu 10 ml hingga tanda batas sehingga diperoleh konsentrasi 10, 20, 30, 40, 50 µg/ml.

Dipipet sebanyak 2 ml masing-masingnya lalu dimasukkan ke dalam vial, ditambahkan 4 ml larutan DPPH. Didiamkan selama 30 menit di tempat gelap. Serapan larutan diukur dengan spektrofotometer UV-Visibel pada panjang gelombang maksimum.

### 5. Fraksi Butanol

Pipet 5 ml larutan fraksi butanol (1000 µg/ml) kemudian dilarutkan dengan aquadest dalam labu ukur 50 ml sampai tanda batas, sehingga didapatkan larutan dengan konsentrasi 100 µg/ml. Dari konsentrasi 100 µg/ml dipipet sebanyak 2,4,6,8 dan 10 ml dan diencerkan dengan etanol-aquadest (1:1) pada labu 10 ml hingga tanda batas sehingga diperoleh konsentrasi 20, 40, 60, 80, 100 µg/ml.

Dipipet sebanyak 2 ml masing-masingnya lalu dimasukkan ke dalam vial, ditambahkan 4 ml larutan DPPH. Didiamkan selama 30 menit di tempat gelap. Serapan larutan diukur dengan spektrofotometer UV-Visibel pada panjang gelombang maksimum.

#### 6. Penentuan % Inhibisi

Setiap konsentration larutan sampel diukur serapannya pada panjang gelombang maksimum DPPH. Nilai serapan yang diperoleh digunakan untuk mendapatkan % inhibisi terhadap radikal DPPH dengan menggunakan rumus berikut:

$$\text{Persentase inhibisi} = \left[ 1 - \frac{A_1 - A_2}{A_0} \right] \times 100\%$$

Keterangan:

$A_0$  = Penyerapan kontrol DPPH (tanpa kehadiran sampel)

$A_1$  = Penyerapan sampel + DPPH

$A_2$  = Penyerapan sampel tanpa DPPH.

#### 7. Penentuan $IC_{50}$

Kurva kalibrasi aktivitas antioksidan tiap sampel ditentukan menggunakan data % inhibisi dan konsentrasi. Dari kurva kalibrasi diperoleh persamaan regresi linear. Nilai konsentrasi hambat 50% ( $IC_{50}$ ) dapat diperoleh dari persamaan regresi  $y = a + bx$  dengan memasukkan angka 50 pada y sehingga diperoleh nilai x sebagai  $IC_{50}$ .

## **BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN**

#### 4.1. Hasil

Setelah dilakukan penelitian mengenai aktivitas antioksidan dari ekstrak dan fraksi daun piladang (*Solenostemon scutellarioides* (L.) Codd), maka didapatkan hasil sebagai berikut :

1. Dari 2.105 g sampel segar daun piladang (*Solenostemon scutellarioides* (L.) Codd) diperoleh 240 g daun piladang yang kering dan diserbukkan didapatkan ekstrak kental sebanyak 54,95 g yang secara organoleptis berwarna coklat kehitaman, rasa pahit serta memiliki bau yang khas dan rendemennya adalah 22,89%. Susut pengeringan pada ekstrak etanol daun piladang adalah 9,88 % dan kadar abu pada ekstrak etanol daun piladang adalah 6,20%. Hasil dapat dilihat pada Tabel 1.
2. Uji skrining fitokimia pada ekstrak daun piladang ini positif dengan pereaksi alkaloid, fenolik, steroid, saponin dan flavonoid. Hasil ini dapat dilihat pada Tabel 1.
3. Dari 40 g ekstrak etanol daun piladang setelah dilakukan fraksinasi diperoleh masing-masing fraksi *n*-heksan 1,3072 g (% Rendemen = 3,268%), fraksi etil asetat 6,8367 g (% Rendemen = 17,091%) dan butanol 15,459 g (% Rendemen = 38,647%). Hasil ini dapat dilihat pada Tabel 2.
4. Dari pengujian KLT pada eluen A pada ekstrak didapatkan noda 6 noda dengan harga R<sub>f</sub> dan warna : 0,17 (ungu kemerahan); 0,28 (ungu); 0,38 (orange kemerahan); 0,45 (orange kemerahan); 0,59 (orange kemerahan); dan 0,87 (biru fl). Pada fraksi *n*-heksan didapatkan 9 noda dengan harga R<sub>f</sub> dan warna : 0,26 (kekuningan); 0,28 (orange kemerahan); 0,38 (kekuningan); 0,45 (kekuningan); 0,59 (biru fl); 0,64 (biru fl); 0,75

(orange kemerahan); 0,84 (biru fl); dan 0,94 (ungu). Pada fraksi etil asetat didapatkan 5 noda dengan harga Rf dan warna : 0,14 (kekuningan); 0,17 (orange kemerahan); 0,28 (ungu); 0,87 (biru fl) dan 0,94 (ungu). Pada fraksi *n*-butanol didapatkan 1 noda dengan harga Rf dan warna : 0,87 (biru fl). Hasil ini dapat dilihat pada Tabel 3.

Pada plat KLT dengan eluen B pada ekstrak didapatkan 9 noda dengan harga Rf dan warna : 0,21 (orange); 0,27 (biru fl); 0,31 (orange); 0,41 (orange); 0,69 (ungu); 0,72 (orange); 0,81 (orange); 0,84 (orange); dan 0,91 (biru). Pada fraksi *n*-heksan didapatkan 5 noda dengan harga Rf dan warna 0,72 (orange); 0,75 (coklat); 0,81 (biru); 0,84 (biru) dan 0,91 (orange). Pada fraksi etil asetat didapatkan 12 noda dengan harga Rf dan warna : 0,1 (biru); 0,18 (orange); 0,21 (orange); 0,27 (orange); 0,32 (biru fl); 0,43 (orange); 0,54 (orange); 0,69 (coklat); 0,75 (ungu); 0,81 (orange); 0,87 (kuning) dan 0,91(biru). Pada fraksi butanol didapatkan 2 noda dengan harga Rf dan warna 0,1 (biru kehijauan); 0,91 (biru fl). Hasil ini dapat dilihat pada Tabel 4.

Pada plat KLT dengan eluen C pada ekstrak didapatkan 5 noda dengan harga Rf dan warna : 0,57 (orange kemerahan); 0,60 (biru pekat); 0,68 (biru fl); 0,81 (ungu); dan 0,87 (orange kemerahan). Pada fraksi *n*-heksan didapatkan 2 noda dengan harga Rf dan warna : 0,81 (kekuningan) dan 0,9 (orange kemerahan). Pada fraksi etil asetat didapatkan 8 noda dengan harga Rf dan warna : 0,18 (ungu); 0,29 (ungu); 0,52 (orange kemerahan); 0,6 (orange kemerahan); 0,68 (biru fl); 0,81 (ungu); 0,87 (kehijauan); dan 0,9 (ungu). Pada fraksi butanol didapatkan 3 noda dengan

harga Rf dan warna : 0,25 (ungu); 0,6 (biru); dan 0,9 (biru fl). Hasil dapat dilihat pada Tabel 5.

5. Larutan standar DPPH 35 µg/ml memberikan serapan maksimum pada panjang gelombang masing-masing 520 nm. Dapat dilihat pada Lampiran 3.
6. Pada penentuan aktivitas antioksidan diperoleh hasil perhitungan IC<sub>50</sub> larutan pembanding vitamin C yaitu 7,8459 µg/ml. Sedangkan pada penentuan aktivitas antioksidan ekstrak diperoleh hasil perhitungan IC<sub>50</sub> 39,0296 µg/ml; fraksi *n*-heksan 364,00 µg/ml; fraksi etil asetat 29,1485 µg/ml dan fraksi butanol 66,2133 µg/ml. Hasil ini dapat dilihat pada Tabel 6.
7. Kesetaraan aktivitas antioksidan ekstrak, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi butanol dengan pembanding vitamin C yaitu :
  - 1 mg vitamin C setara dengan 4,9745 mg ekstrak daun piladang
  - 1 mg vitamin C setara dengan 46,4390 mg ekstrak fraksi *n*-heksan
  - 1 mg vitamin C setara dengan 3,7151 mg ekstrak fraksi etil asetat
  - 1 mg vitamin C setara dengan 8,8450 mg ekstrak fraksi butanol

#### **4.2. Pembahasan**

Bagian tanaman yang digunakan pada penelitian ini adalah daun piladang (*Solenostemon scutellarioides* (L.) Codd) sebanyak 2.105 g yang diperoleh dari

Padang panjang dan diidentifikasi di Herbarium Universitas Andalas (No. 279/K-ID/ANDA/XI/2014). Daun piladang yang segar dicuci terlebih dahulu, kemudian dilakukan pengeringan secara kering angin diruangan yang tidak terkena cahaya matahari langsung. Proses pengeringan bertujuan untuk mengurangi kadar air dari sampel sehingga sampel tahan lama dan tidak voluminus. Daun kering piladang kemudian dihaluskan dengan blender sehingga menjadi serbuk. Penghalusan atau pengurangan ukuran daun piladang bertujuan untuk memperluas kontak permukaan daun piladang dengan pelarut pengestraksi sehingga pelarut dapat berpenetrasi secara cepat kedalam sampel dan proses ekstraksi lebih optimal.

Sebanyak 240 g serbuk kering daun piladang dimaserasi dengan pelarut etanol 70% sebanyak  $\pm$  5,5 L selama 5 hari, maserasi dilakukan 3 kali pengulangan sambil sesekali dikocok supaya mempercepat terjadi kesetimbangan. Proses ekstraksi dilakukan dengan wadah berwarna coklat untuk menghindari pengaruh cahaya (radiasi) terhadap komponen dalam sampel. Keuntungan ekstraksi dengan cara maserasi adalah prosesnya sederhana, tidak memerlukan alat khusus, dan dapat dilakukan pada suhu kamar sehingga terhindar dari kerusakan komponen yang tidak tahan panas, sedangkan kerugiannya yakni pengerjaannya lama, dan membutuhkan pelarut yang banyak. Hasil maserasi disaring dan filtrat yang diperoleh dipisahkan dengan *rotary evaporator*, sehingga diperoleh ekstrak kental etanol.

Ekstrak kental etanol daun piladang dikarakterisasi dengan beberapa parameter yaitu organoleptis, rendemen, susut pengeringan, kadar abu dan skrining fitokimia. Penetapan susut pengeringan dilakukan dengan tujuan menguapkan air dan minyak atsiri yang ada pada ekstrak. Penetapan kadar abu



bertujuan untuk memberikan gambaran kandungan mineral internal dan eksternal. Data hasil karakterisasi ekstrak daun piladang berdasarkan pada tabel sebagai berikut :

Tabel 1. Hasil Karakterisasi Ekstrak Etanol Daun Piladang (*Solenostemon scutellarioides* (L.) Codd)

No.	Karakterisasi Ekstrak Daun Piladang	
	Karakter	Hasil Pengamatan
1.	Organoleptis	Bentuk : Ekstrak Kental Bau : Khas Rasa : Pahit Warna : Coklat Kehitaman
2.	Rendemen	22,89 %
4.	Susut Pengeringan	9,88 %
5.	Kadar Abu	6,20%
6.	Skrining Fitokimia	(+) Flavonoid (+) Fenolik (+) Saponin (+) Steroid (+) Alkaloid

Sebanyak 40 g ekstrak total difraksinasi dengan menggunakan tiga pelarut yang berbeda kepolarannya yaitu *n*- heksan, etil asetat dan butanol. Fraksinasi bertujuan untuk mengelompokkan atau menyederhanakan berdasarkan tingkat kepolarannya. Data hasil frakasiasi dapat dilihat pada tabel sebagai berikut :

Tabel 2. Data Rendemen Fraksiasi Daun Piladang

NO.	Fraksi	Bobot Ekstrak (gr)	Rendemen (%)
1.	Fraksi <i>n</i> - heksan (non polar)	1,3072	3,268
2.	Fraksi Etil Asetat (semi polar)	6,8367	17,091
3.	Fraksi Butanol (polar)	38,647	38,647

Ekstrak dan fraksi-fraksi daun piladang diperiksa profil KLT menggunakan plat silika gel PF 254 dengan tiga macam eluen dengan kepolaran yang berbeda yaitu eluen A, eluen B dan eluen C.

Pada eluen A terlihat ekstrak etanol menampilkan 6 noda, fraksi *n*- heksan menampilkan 9 noda, fraksi etil asetat 5 noda dan fraksi butanol menampilkan 1 noda. Data hasil kromatografi lapis tipis berdasarkan pada tabel sebagai berikut :

Tabel 3. Ekstrak Etanol Daun Piladang, Fraksi *n*-heksan, Fraksi Etil Asetat dan

Fraksi Butanol dengan Eluen *n*-heksan : Etil Asetat pada Perbandingan

6 : 4 (A)

No	Sampel	Jumlah dan Harga Rf				
		Visual	UV 254nm	UV 366nm	Dragendorff	FeCl <sub>3</sub>
1.	Ekstrak		1 noda : 0,28 (ungu)	5 noda : 0,28 (orange kemerahan); 0,38 (orange kemerahan); 0,45 (orange kemerahan); 0,59 (orange kemerahan);		1 noda : 0,17 (ungu kemerahan)

				0,87 (biru fl)		
2.	Fraksi <i>n</i> -heksan	4 noda : 0,26 (kekuningan); 0,38 (kekuningan); 0,45 (kekuningan); 0,59 (biru)	4 noda : 0,84 (ungu); 0,94 (ungu)	8 noda : 0,26 (kemerahan); 0,28 (kemerahan); 0,38 (coklat); 0,45 (coklat); 0,59 (coklat); 0,64 (biru fl); 0,75 (kemerahan); 0,84 (biru fl)	2 noda : 0,38 (orange); 0,45 (kuning);	
3.	Fraksi Etil Asetat	1 noda : 0,14 (kekuningan)	2 noda : 0,28 (ungu); 0,94 (biru fl)	3 noda : 0,17 (orange); 0,28(orange kemerahan) 0,87 (biru fl)	1 noda : 0,14 (orange)	2 noda : 0,14 (ungu kemerahan); 0,17 (ungu kemerahan)
4.	Fraksi Butanol			1 noda : 0,87 (biru fl)		

Pada eluen B terlihat ekstrak etanol menampilkan 9 noda, fraksi *n*-heksan menampilkan 5 noda, fraksi etil asetat 12 noda dan fraksi butanol menampilkan 2 noda. Data hasil kromatografi lapis tipis berdasarkan pada tabel sebagai berikut :

Tabel 4. Ekstrak Etanol Daun Piladang, Fraksi *n*-heksan, Fraksi Etil Asetat dan Fraksi Butanol dengan Eluen *n*-heksan : Etil Asetat pada Perbandingan 3 : 7 (B)

No	Sampel	Jumlah dan Harga Rf
----	--------	---------------------

		Visual	UV 254nm	UV 366nm	Dragendorff	FeCl <sub>3</sub>
1.	Ekstrak		1 noda : 0,69(ungu)	8 noda : 0,21 (orange); 0,27 (biru fl); 0,31 (orange); 0,41 (orange); 0,72 (orange); 0,81 (orange); 0,84 (orange); 0,91 (biru fl)		1 noda : 0,69 (coklat)
2.	Fraksi <i>n</i> -heksan	3 noda : 0,75 (kuning); 0,81 (biru); 0,84 (kuning)	2 noda : 0,84 (ungu); 0,91 (ungu)	4 noda : 0,72 (orange); 0,75 (coklat); 0,84 (biru fl); 0,91 (orange)		
3.	Fraksi Etil Asetat	1 noda : 0,81 (hijau)	6 noda : 0,1 (biru fl); 0,32 (ungu); 0,69 (coklat); 0,75 (ungu); 0,87 (kuning); 0,0,91 (biru fl)	8 noda : 0,18(orange); 0,21(orange); 0,27 (orange); 0,32 (biru fl); 0,43(orange); 0,54 (orange); 0,81(orange); 0,91 (biru fl)	2 noda : 0,75 (orange); 0,81 (orange)	2 noda : 0,1 (biru pekat); 0,32 (biru kehijauan)
4.	Fraksi Butanol		1 noda : 0,1 (biru fl)	1 noda : 0,91 (biru fl)		1 noda : 0,1 (biru kehijauan)

Sedangkan pada eluen C terlihat ekstrak etanol menampilkan 5 noda, fraksi *n*- heksan menampilkan 2 noda, fraksi etil asetat 8 noda dan fraksi butanol menampilkan 3 noda. Data hasil kromatografi lapis tipis berdasarkan pada tabel sebagai berikut :

Tabel 5. Ekstrak Etanol Daun Piladang, Fraksi *n*-heksan, Fraksi Etil asetat dan Fraksi Butanol dengan Eluen Metanol : Etil Asetat pada Perbandingan 5 : 5 (C)

No	Sampel	Jumlah dan Harga Rf				
		Visual	UV 254nm	UV 366nm	Dragendorff	FeCl <sub>3</sub>
1.	Ekstrak	1 noda : 0,87 (hijau)	1 noda : 0,81 (ungu)	3 noda : 0,57 (orange kemerahan); 0,68 (biru fl); 0,87 (orange kemerahan);		2 noda : 0,60 (biru pekat) 0,68 (coklat)
2.	Fraksi <i>n</i> - heksan	1 noda : 0,81 (kekuningan )		2 noda : 0,81 (orange kemerahan); 0,9(orange kemerahan)		
3.	Fraksi Etil Asetat	2 noda : 0,81 (kekuningan );	4 noda : 0,18(ungu); 0,29(ungu); 0,81 (ungu);	5 noda : 0,52(orange kemerahan); 0,6(orange	1 noda : 0,81(orange kemerahan)	1 noda : 0,52 (biru pekat)

		0,87 (kehijauan)	0,90 (ungu)	kemerahan); 0,68 (biru fl); 0,81(orange kemerahan); 0,87(orange kemerahan)		
4.	Fraksi Butanol		2 noda : 0,25 (ungu); 0,9(ungu)	1 noda : 0,9 (biru fl)		1 noda : 0,6 (biru)

Pada penampak noda UV 254 nm terlihat noda-noda berwarna ungu gelap dengan latar belakang terang plat berwarna biru terang pada ekstrak dan fraksi-fraksi pada Rf tertentu. Ini menunjukkan bahwa noda-noda tersebut mengandung gugus kromofor sehingga dapat menyerap sinar UV 254 nm. Sementara pada penampak noda UV 366 nm memberikan noda-noda yang berfluoresensi. Noda yang berpendar dibawah UV 366 nm biasanya adalah zat-zat yang memiliki gugus kromofor yang besar atau banyak, zat warna alami atau mengandung zat fluoresens seperti flor dan logam. Reagen FeCl<sub>3</sub> digunakan untuk melihat adanya noda-noda yang merupakan golongan senyawa fenolat. Reagen Dragendroff bertujuan untuk melihat noda golongan senyawa alkaloid. Dari 3 eluen yang digunakan eluen A dan eluen B menunjukkan jumlah noda yang terlihat, pola pemisahan dan harga Rf yang bagus daripada eluen C. Dari hasil profil KLT menunjukkan senyawa fenolat pada ekstrak, fraksi etil asetat dan fraksi butanol. Noda yang bereaksi dengan Dragendroff membentuk warna orange kemerahan dan diduga adalah alkaloid terdapat pada fraksi *n*- heksan dan etil asetat.

Pola noda ekstrak berbeda dengan fraksi-fraksinya disebabkan karena zat pada ekstrak berada dalam campuran yang kompleks sehingga noda menjadi sulit dipisahkan. Beberapa noda yang terlihat difraksi tidak ditemukan pada ekstrak kemungkinan disebabkan karena konsentrasi zat tersebut yang kecil didalam campuran ekstrak. Berdasarkan profil KLT dari ekstrak dan fraksi-fraksi daun piladang maka eluen A dan eluen B memberikan profil yang baik dibandingkan eluen C. Hal ini ditinjau dari aspek pemisahan antara noda yang jelas, jumlah noda yang lebih banyak dan sebaran nilai Rf.

Ekstrak dan fraksi-fraksi daun piladang diuji aktivitas antioksidannya dengan menggunakan metode radikal DPPH. Metode DPPH dipilih karena memiliki beberapa kelebihan antara lain sederhana, mudah, cepat, peka, serta hanya memerlukan sedikit sampel. Prinsip pengukuran secara spektrofotometri visibel adalah mengukur besarnya absorbansi pemucatan warna larutan DPPH.

Aktivitas antioksidan daun piladang dilakukan dengan metoda perangkap radikal bebas DPPH. Penentuan aktivitas antioksidan ekstrak dan fraksi-fraksi daun piladang dengan menggunakan spektrofotometer UV-Visibel diawali dengan penentuan panjang gelombang maksimum DPPH. Pada penelitian ini diperoleh  $\lambda$  maks 520 nm. Radikal DPPH ditambahkan dengan zat antioksidan dengan berbagai macam konsentrasi kemudian diukur serapannya. Dari data nilai serapan DPPH radikal dan serapan DPPH – sampel diperoleh presentase inhibisi. Selanjutnya nilai % inhibisi dan konsentrasi sampel diolah untuk menghasilkan suatu kurva kalibrasi antioksidan. Berdasarkan kurva kalibrasi ini dapat diketahui  $IC_{50}$  sampel. Nilai  $IC_{50}$  (*Inhibition concentration 50%*), nilai tersebut menggambarkan besarnya konsentrasi senyawa uji yang dapat menangkap radikal

sebesar 50%. Semakin kecil nilai  $IC_{50}$  maka senyawa uji tersebut mempunyai keefektifan sebagai penangkap radikal yang lebih baik. Hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak dan fraksi-fraksi daun piladang dapat dilihat pada tabel berikut :

Tabel 6. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Dan Fraksi-Fraksi Daun Piladang

Sampel	Konsentrasi ( $\mu\text{g/mL}$ )	Absorban			% Inhibisi	Persamaan linear	$IC_{50}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )
		DPPH	Sampel + DPPH	Sampel			
Vitamin C	2	0,634	0,546	0,000	13,88	Y = 6,017x + 2,787 r = 0,995	7,8459
	4		0,458	0,001	27,91		
	6		0,397	0,001	38,32		
	8		0,302	0,002	52,68		
	10		0,245	0,002	61,67		
Ekstrak total	20	0,623	0,435	0,007	31,30	Y = 0,7905 x + 19,149 r = 0,9559	39,0296
	40		0,294	0,011	54,57		
	60		0,240	0,019	64,52		
	80		0,087	0,023	89,72		
	100		0,074	0,029	2,77		
Fraksi n-heksan	100	0,630	0,535	0,021	18,41	Y = 0,1216 x + 5,741 R = 0,9976	364,00
	200		0,485	0,038	29,04		
	300		0,422	0,057	42,06		
	400		0,354	0,075	55,71		
	500		0,305	0,090	65,87		
Fraksi Etil	10	0,623	0,546	0,004	13,00	Y = 1,6724	29,1485
	20		0,387	0,006	38,84		



asetat	30		0,298	0,009	53,61	x +	
	40		0,189	0,010	71,26	1,252	
	50		0,136	0,014	80,41	R = 0,9735	
Fraksi Butanol	20	0,623	0,562	0,005	10,59	Y =	66,2133
	40		0,509	0,008	19,58	0,8868	
	60		0,333	0,009	47,99	x -	
	80		0,197	0,013	70,46	8,718	
	100		0,175	0,012	73,83	R = 0,9483	

Berdasarkan nilai  $IC_{50}$  yang dikatakan memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat apabila nilai  $IC_{50}$  kurang dari 50 ppm, antioksidan kuat jika  $IC_{50}$  50-100 ppm, antioksidan sedang jika  $IC_{50}$  100-150 ppm, antioksidan lemah jika nilai  $IC_{50}$  150-200 ppm dan antioksidan sangat lemah jika  $IC_{50}$  lebih dari 200 ppm (Molyneux, 2004). Kategori aktivitas antioksidan diperoleh dapat dilihat dari Tabel. 7.

Tabel 7. Kategori Aktivitas Antioksidan Daun Piladang

No.	Sampel	$IC_{50}$ (ppm)	Kategori Aktivitas
1.	Ekstrak Total	39,0296	Sangat kuat
2.	Fraksi <i>n</i> - heksan	364,00	Sangat lemah
3.	Fraksi Etil Asetat	29,1485	Sangat kuat
4.	Fraksi Butanol	66.2133	Kuat

Bedasarkan data tabel diatas diketahui aktivitas antioksidan tertinggi diperoleh pada fraksi etil asetat, diikuti ekstrak total, fraksi butanol dan fraksi *n*-heksan. Kesetaraan aktivitas antioksidan sampel dengan pembanding vitamin C yang dinyatakan dalam bobot mg sampel terhadap mg asam askorbat dapat dilihat dari tabel berikut :

Tabel 8. Kesetaraan Aktivitas Antioksidan Sampel dengan Pembanding Vitamin C

No.	Sampel	Bobot setara dari 1 mg vitamin C (mg)
1.	Ekstrak Total	4,9745
2.	Fraksi <i>n</i> - heksan	46,4390
3.	Fraksi Etil Asetat	3,7151
4.	Fraksi Butanol	8,4392

## BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1. Kesimpulan

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan dapat diambil kesimpulan :

1. Profil KLT ekstrak dan fraksi daun piladang menunjukkan jumlah dan Rf noda yang berbeda pada eluen yang berbeda. Dari 3 eluen yang digunakan eluen A dan eluen B menunjukkan jumlah noda yang terlihat, pola pemisahan dan harga Rf yang bagus daripada eluen C. Ekstrak dan fraksi etil asetat serta

fraksi butanol menunjukkan adanya kandungan senyawa fenolat, sedangkan fraksi *n*- heksan dan fraksi etil asetat menunjukkan adanya senyawa alkaloid.

2. Aktivitas antioksidan yang tertinggi diberikan oleh fraksi etil asetat (IC<sub>50</sub> = 29,1485 µg/ml), diikuti oleh ekstrak total (IC<sub>50</sub> = 39,0296 µg/ml), fraksi butanol (IC<sub>50</sub> = 66,2133 µg/ml) dan *n*- heksan (IC<sub>50</sub> = 364,00 µg/ml).

## 5.2. Saran

Disarankan kepada peneliti selanjutnya untuk melakukan penelitian isolasi terhadap senyawa aktif antioksidan dari daun piladang (*Solenostemon scutellarioides* (L.) Codd).

## DAFTAR PUSTAKA

- Achmad SA, 1986, *Kimia Organik Bahan Alam*, Departemen Pendidikan dan Kebudayaan, Universitas Terbuka, Jakarta.
- Ansel HC, 1989, *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*, Edisi IV, diterjemahkan oleh Farida Ibrahim, UI Press, Jakarta.
- Basrah A, 1995, *Agroindustri Tanaman Obat, Status Perkembangan Produksi dan Pengolahan. Prosiding Forum Konsolidasi Strategi dan Koordinasi Pengembangan Agroindustri Tanaman Obat*, Badan Penelitian dan Pengembangan Industri. PT. Gramedia, Jakarta.
- Dachriyanus, 2004, *Analisis Struktur Senyawa Organik secara Spektroskopi*, cetakan pertama, Andalas University Press, Padang.
- Dalimartha S, 2008, *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*, Jilid 5, Pustaka Bunda, Grup Puspa Swara, Anggota IKAPI, Jakarta.

- Depkes RI, 2000, *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*, Edisi I, Departemen Kesehatan Republik Indonesia Direktorat Jenderal Pengawasan Obat Dan Makanan Direktorat Pengawasan Obat Tradisional, Jakarta.
- Depkes RI, 1985, *Cara Pembuatan Simplisia*, Direktorat Jenderal Pengawasan Obat Dan Makanan, Jakarta.
- Depkes RI, 1980, *Materia Medika Indonesia Jilid IV*, Jakarta.
- Depkes RI, 1979, *Farmakope Indonesia*, Edisi III, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Djamal, Rusjdi, 2010, *Prinsip-prinsip Dasar Isolasi dan Identifikasi*, Universitas Baiturrahmah, Padang.
- Harborne JB, 1987, *Metoda Fitokimia, Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*, Diterjemahkan oleh Pwdmadinata, K., 70, ITB, Bandung.
- Hernani, Raharjo M, 2005, *Tanaman Berkhasiat Antioksidan*, Penebar Swadaya, Jakarta.
- Keinanen MJT, Riitta, 1996, Effect of Sample Preparation Method on Birch (Betula Pendula Roth) Leaf Phenolics, *J. Arg. Chem.* 44:2724-2727.
- Kumalaningsih S, 2006, *Antioksidan Alami*, Trubus Agrisarana, Surabaya.
- Lautan J, 1997, Radikal Bebas Pada Eritrosit dan Leukosit, *Cermin Dunia Kedokteran*, (116):49-52.
- Lisdawati V, Daroham M, Sukmayanti A, Yun AN, 2008, Karakterisasi Daun Miana (*Plectranthus scutellarioides* (L.) bth.) dan Buah Sirih (*Piper betle* L.) secara Fisiko Kimia dari Ramuan Lokal Antimalaria Daerah Sulawesi Utara, Media Litbang Kesehatan Badan Litbangkes.
- Markham KR, 1988, *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*, Terjemahan Kosasih Padmawinata, ITB, Bandung.
- Molyneux P, 2004, "The use of the stable free radical 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity", *J. Sci. Technol.*, 26(2):21-219.
- Mosquera OM, Yaned M, Correa Diana C, Buitrago, and Jaime Nino, 2007, Antioxidan Activity of twenty Five Plant from Colombian Biodiversity, *Mem innst Oswaldo Crus*, 102(5):63-634.
- Mpila. Deby A, Fatimali, Weny I. Wiyono, 2012, Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Mayana (*Coleus atropurpureus* [L.] Benth) terhadap *Staphylococcus aureus*, *escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa* secara In-Vitro, *Skripsi SI*, FMIPA UNSRAT, Manado.

- Okawa M, Kinjo J, Nohara T, Ona M, 2001, DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl) Radical Scavenging Activity of Flavonoids Obtained from Some Medicinal Plants, *Biol. Pharm. Bull* ;24(10):63-634.
- Pietta P-G, 1999, Flavonoids as Antioxidants, Reviews, *J. Nat. Prod*,63;1035-1042.
- Pourmorad FSJ, Hosseinimehr N, Shahabimajd, 2006, Antioxidant Activity, Phenol and Flavonoid Contents of Some Selected Iranian Medical Plant. *African Journal of Biotechnology*.;2(5):1142-1145.
- Prakash A, 2001, Antioxidant Activity, *Medallion Laboratories Analytical Progress*.2(19):1-4.
- Ridwan, 2006, Kandungan Kimia Berbagai Ekstrak Daun Miana (*Coleus* (L.) Benth) dan Efek Anthelmintiknya terhadap Cacing Pita pada Ayam. *J. Pert. Indon*.2(2):1-6.
- Robinson T, 1995, *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*, Penerjemah: Kosasih Padmawinata, ITB, Bandung.
- Setiati S, 2003, *Radikal Bebas, Antioksidan, dan Proses Menua*, Majalah Medika, Edisi 6, Jakarta.
- Singh Gurcharan, 2003, *Plant Systematics An Integrated Approach*, Science Publishers Inc, Singapore.
- Sofia D, 2005, Antioksidan dan Radikal Bebas. *Majalah ACID FMIPA Universitas Lampung* Edisi III/Tahun V/Mei 2005, ISSN: 1410-1858.
- Syamsuhidayat SS dan Hutapea JR, 1991, *Inventaris Tanaman Obat Indonesia*. Departemen Kesehatan RI, Jakarta.
- Tahir T, Wijaya K, Widianingsih, D, 2003, Terapan Analisis Hansch Untuk Aktivitas Antioksidan Senyawa Turunan Flavon/ Flavonolol, *Seminar on Chemometrics-Chemistry Dept Gadjah Mada University*, Yogyakarta.
- Voigt R, 1995, *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*, Edisi V, diterjemahkan oleh Soendani Noerono Soewandhi, Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Waterhouse A, 1999, Folin Ciocalteu Micro Method For Total Phenol in Wine, *American Journal of Enology and Viticultur*.28:1-3.
- Wijaya A, 1996, Radikal Bebas dan Parameter Status Antioksidan, Forum Diagnosticum, *Prodia Diagnostic Educational Services*.1:1-12
- Winarsi H, 2007, *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Cetakan kelima, Penerbit Kanisus (Anggota IKAPI), Yogyakarta.

Yuniarti, Titin, 2008, *Tanaman Obat Tradisional*, Penerbit Medipress,  
Yogyakarta.