Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Herba Suruhan (*Peperomia pellucida* (L.) H.B.K) dengan Metode DPPH (2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil)

Pramita Yuli Pratiwi[1], Nur Atikah[1], Farisya Nurhaeni[2], Umi Nurul Salamah[2]
[1]Program Studi D3 Farmasi, Politeknik Kesehatan Kemenkes Surakarta, Surakarta, Indonesia
[2]Program Studi D3 Farmasi, Politeknik Kesehatan Bhakti Setya Indonesia, Yogyakarta, Indonesia
*Email: pramita.uli@gmail.com

Keywords:
Antioksidan; Peperomia pellucida (L.) H.B.K; DPPH

Abstrak

Antioksidan merupakan senyawa-senyawa yang mampu menghilangkan, membersihkan, menahan pembentukan ataupun memadukan efek spesies oksigen reaktif. Herba suruhan (Peperomia pellucida (L.) H.B.K) adalah tanaman semak perdu kecil yang memiliki manfaat dan khasiat untuk mengobati berbagai macam penyakit. Beberapa senyawa kimia yang terdapat dalam herba suruhan diketahui berkhasiat sebagai antioksidan. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas antioksidan herba suruhan.

Herba suruhan diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan penyari etanol 96%. Ekstrak yang diperoleh kemudian diuji kandungan fitokimia dan aktivitas antioksidannya. Penentuan aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode DPPH (1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil). Aktivitas antioksidan ditentukan dengan menggunakan spektrofotometri pada panjang gelombang 520,0 nm.

Hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa herba suruhan mengandung alkaloid, flavonoid, steroid dan polifenol. Ekstrak etanolik herba suruhan memiliki aktivitas antioksidan tergolong sedang dengan nilai IC_{50} sebesar 132,85 µg/ml.

1. PENDAHULUAN

Ada berbagai macam teori yang dapat menjelaskan penyebab penyakit degeneratif. Salah satu teori yang dianggap cukup signifikan adalah teori radikal bebas. Berdasarkan teori ini, penyebab penyakit degeneratif ialah akibat timbulnya radikal bebas (hidroksil) dalam mekanisme biokimia yang terjadi di dalam tubuh [1].

Metabolisme yang terjadi di dalam tubuh melibatkan proses oksidasi dan reduksi. Proses oksidasi dapat menyebabkan terbentuknya oksidan atau radikal bebas yang berbahaya bagi tubuh [2]. Radikal bebas dapat merusak makromolekul seperti merusak lipid membran sel, DNA, protein yang menyebabkan stres oksidatif sel [3].

Proses oksidasi radikal bebas dapat dihambat atau dinetralkan dan dihancurkan oleh senyawa yang tergolong antioksidan [4]. Antioksidan dapat diperoleh dalam bentuk sintetik (buatan) atau secara alami. Antioksidan buatan seperti asam benzoat, BHA (*Butylated Hydroxy Anisol*), BHT (*Butylated Hydroxy Toluene*), TBHQ (*Tertier Butylated Hydroxy Quinone*) dapat menimbulkan efek samping pada kesehatan tubuh, yaitu dapat menimbulkan tumor pada hewan coba yang digunakan dalam jangka waktu yang lama dan juga

dapat menimbulkan kerusakan hati jika dikonsumsi secara berlebihan [2].

Antioksidan secara alami terkandung dalam tumbuhan. Tumbuhan suruhan (*Peperomia pellucida* (L.) H.B.K) secara tradisional telah dimanfaatkan dalam mengobati beberapa penyakit, seperti abses, bisul, jerawat, radang kulit, penyakit ginjal dan sakit perut [5]. Masyarakat di Sulawesi Utara juga telah memanfaatkan tanaman ini untuk menurunkan kolesterol darah. Kemampuan tanaman suruhan sebagai tanaman obat diduga berkaitan erat dengan kandungan antioksidan pada tanaman tersebut [6].

Ekstrak etanol *Peperomia pellucida* (L.) H.B.K mengandung alkaloid, tanin, resin, flavonoid, steroid, fenol, dan karbohidrat. Informasi kandungan antioksidan pada tumbuhan sangat dibutuhkan guna pengambilan keputusan dalam upaya memenuhi kebutuhan antioksidan tubuh, sehubungan dengan pencegahan dan pengobatan penyakit [7].

Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian untuk menguji aktivitas antioksidan ekstrak etanol herba suruhan (*Peperomia pellucida* (L.) H.B.K) dengan metode DPPH, sebagai langkah untuk memberikan dasar ilmiah penggunaan tanaman suruhan sebagai obat tradisional.

2. METODE

2.1. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah nampan, kain hitam, lemari pengering, blender, maserator, cawan porselen, kertas saring, corong, batang pengaduk, neraca analitik, kipas angin, eksikator, alat-alat gelas dan spektrofotometer UV-Vis.

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah herba suruhan (*Peperomia pellucida* (L.) H.B.K). Pelarut yang digunakan adalah etanol 96% (*BRATACO, GKA JAKARTA*). Bahan untuk mengukur aktivitas antioksidan: etanol pro analisis *(MERCK)*, 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) *(MERCK)*, senyawa pembanding yang digunakan adalah kuersetin *(MERCK)*.

2.2. Jalannya Penelitian

Pembuatan Serbuk Simplisia

Herba suruhan disortasi basah (pemisahan pada saat bahan masih segar). Setelah itu, dilakukan pencucian dengan air bersih yang mengalir. Sampel kemudian ditimbang dan dikeringkan. Pengeringan dilakukan dibawah sinar matahari langsung dengan ditutup kain hitam selama 1 hari agar sampel sedikit layu. Sampel kemudian dimasukkan ke dalam lemari pengering untuk menghilangkan kandungan air pada tanaman suruhan dan menjaga kandungan kimia yang terdapat di dalamnya. Dilakukan sortasi kering dan kemudian diserbuk. Simplisia yang sudah diserbuk kemudian diayak dengan ayakan 10/50 [8].

Penyarian Serbuk Simplisia

Penyarian serbuk simplisia dilakukan dengan metode maserasi. Sebanyak 90 gram serbuk simplisia yang telah diayak, dimasukkan ke dalam maserator kemudian ditambahkan 900 mL etanol 96%, diaduk selama 30 menit dan ditutup rapat. Serbuk simplisia dimaserasi selama 24 jam. Setelah didiamkan selama 24 jam ampas dan filtrat 1 dipisahkan dengan cara disaring dengan kain dan kertas saring. Ampas ditambahkan penyari 600 mL etanol 96%, diaduk selama 30 menit, didiamkan selama 24 jam kembali dan disaring (filtrat 2). Langkah yang sama dilakukan guna memperoleh filtrat 3. Filtrat 1, filtrat 2 dan filtrat 3 dijadikan satu untuk dienapkan selama 2 hari. Setelah itu disaring kembali sebelum diuapkan dengan *rotary evaporator*. Selanjutnya filtrat diangin-anginkan dengan bantuan kipas angin hingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak kental yang diperoleh kemudian ditimbang dan disimpan dalam wadah tertutup rapat. Setelah itu dihitung rendemennya dan dilakukan uji aktivitas antioksidan.

Uji Kandungan Fitokimia [9]

a. Uji Alkaloid

Uji alkaloid dilakukan dengan cara menambahkan beberapa tetes asam sulfat (H_2SO_4) 2N pada larutan ekstrak. Sampel kemudian diuji dengan 2 pereaksi alkaloid

yaitu pereaksi dragendorff dan pereaksi meyer. Sebanyak 2 mL larutan ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian tambahkan 2 tetes H_2SO_4 dan dragendorff. Hasil uji positif diperoleh apabila terbentuk endapan merah hingga jingga. Setelah telah terjadi endapan, tambahkan pereaksi meyer ke dalam tabung reaksi. Terbentuknya endapan putih kekuningan menunjukkan adanya senyawa alkaloid.

b. Uji Flavonoid

Uji flavonoid dilakukan dengan pereaksi asam sulfat (H_2SO_4). Hasil uji positif apabila terjadi perubahan warna menjadi kuning, merah atau coklat. Sebanyak 1 mL larutan ekstrak dituangkan pada plet tetes dan ditambahkan 2 tetes H_2SO_4.

c. Uji Tanin

Sebanyak 2 mL larutan ekstrak ditambahkan 3 mL aquadest kemudian dipanaskan selama 30 menit. Setelah dingin ditambahkan natrium klorida (NaCl) 2% sebanyak 1 mL. Apabila terjadi suspensi sampel kemudian disaring. Filtrat ditambah gelatin 1% sebanyak 2 mL. Terbentuknya endapan menunjukkan adanya tanin.

d. Uji Polifenol

Beberapa tetes larutan ekstrak ditambah 5 mL aquadest dan dipanaskan di atas *waterbath* pada suhu 55ºC selama 10 menit. Setelah dingin larutan ditambahkan pereaksi besi (III) klorida ($FeCl_3$) sebanyak 3 tetes. Jika terjadi warna hijau-biru, maka sampel positif mengandung polifenol.

e. Uji Steroid

Sebanyak 1 mL ekstrak tanaman suruhan diambil dan ditambahkan dengan 2 mL kloroform. Setelah itu campuran dikocok. Filtrat kemudian ditambahkan asam anhidrat asetat dan asam sulfat pekat masing-masing sebanyak 2 tetes. Reaksi positif ditunjukkan dengan perubahan warna merah pada larutan pertama kali kemudian berubah menjadi biru dan hijau [9].

Pembuatan larutan stok

a. DPPH

Larutan stok DPPH yang akan dibuat berkonsentrasi 0,3 mM. DPPH ditimbang ±3 mg (2,9 mg /0,0029 g), kemudian dimasukkan ke dalam *beaker glass.* Selanjutnya dilakukan proses gojok tuang menggunakan etanol absolut dan dimasukkan ke dalam labu takar 25 mL hingga batas volume.

b. Baku pembanding (Kuersetin)

Larutan stok kuersetin dibuat dengan kadar 0,01% (b/v). Sebanyak 10 mg kuersetin, dimasukkan ke dalam labu takar 10 mL. Selanjutnya ditambah dengan etanol absolut hingga batas volume.

c. Sampel

Larutan stok sampel dibuat dengan kadar 0,1% (b/v). Ekstrak kental herba suruhan ditimbang sebanyak 10 mg menggunakan *beaker glass*. Selanjutnya dilakukan proses gojok tuang dengan menambahkan etanol absolut, kemudian dimasukkan ke dalam labu takar 10 mL.

d. Penentuan aktivitas antioksidan

Penentuan aktivitas antioksidan penangkap radikal bebas dilakukan dengan cara mengambil sejumlah volume ekstrak sampel dengan konsentrasi 40, 80, 120, dan 160. Masukkan ke dalam labu takar 5 mL, kemudian tambahkan 1,0 mL pereaksi DPPH 0,3 mM dan etanol pro-analisis sampai batas tanda. Selanjutnya campuran yang dibuat digojok kuat dengan kekuatan yang sama dan dibiarkan selama 1 jam dan diukur absorbansinya. Setiap sampel dilakukan replikasi 3 kali.

Setelah itu dilakukan perhitungan nilai persen dari aktivitas antiradikal dengan rumus :

$$\frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

Rata-rata absorbansi kontrol adalah nilai serapan dari larutan DPPH, sedangkan absorbansi sampel adalah nilai serapan DPPH yang tidak bereaksi dengan sampel setelah didiamkan selama 60 menit.

Sebagai pembanding digunakan kuersetin. Selanjutnya, dihitung nilai IC_{50} yaitu senyawa ekstrak yang dibutuhkan untuk mengurangi intensitas warna radikal DPPH sebesar 50% [10]. Nilai IC_{50} diperoleh dari suatu persamaan regresi linear yang menyatakan hubungan antara konsentrasi ekstrak uji dengan persen (%) aktivitas radikal bebas.

2.3. Analisis Data

Data berupa absorbansi sampel digunakan untuk mencari persen (%) aktivitas

antioksidan dengan metode DPPH yang selanjutnya akan dibandingkan dengan konsentrasi ekstrak untuk memperoleh persamaan regresi linear. Persamaan regresi linear digunakan untuk mencari nilai IC_{50} sebagai parameter yang dipakai untuk menunjukkan aktivitas antioksidan. Skrining fitokimia dapat dianalisis dengan adanya hasil positif atau negatif dari hasil uji tabung dengan pereagen yang tepat. Ekstrak dianggap positif mengandung senyawa yang dimaksud apabila hasil ujinya positif, demikian juga sebaliknya ekstrak dianggap tidak mengandung senyawa yang dimaksud jika hasil ujinya negatif.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Herba suruhan yang memiliki warna hijau segar dibuat menjadi simplisia serbuk dan kemudian dilakukan ekstraksi dengan metode maserasi. Berdasarkan penelitian Sitorus, dkk. (2013) bahwa kandungan total antioksidan ekstrak herba suruhan kering lebih tinggi daripada ekstrak herba suruhan segar [11]. Hal ini berhubungan dengan faktor pengenceran senyawa antioksidan, semakin rendah kadar airnya, yaitu herba suruhan kering, maka semakin tinggi pula total antioksidan yang terukur. Penyarian dilakukan dengan metode maserasi karena peralatan yang digunakan lebih sederhana, lebih mudah pengerjaannya, dan tidak membutuhkan waktu yang lama. Metode ini termasuk penyarian dingin atau tidak menggunakan panas, sehingga cairan penyari dapat menarik zat aktif yang ada di dalam dinding sel dengan adanya perbedaan konsentrasi.

Penyari yang digunakan dalam penyarian serbuk adalah etanol 96%. Etanol adalah pelarut dengan polaritas yang cukup tinggi sehingga mampu menyari sebagian besar senyawa kimia yang berpotensi sebagai senyawa antioksidan, terutama senyawa-senyawa yang cenderung polar hingga semipolar. Banyak senyawa dengan sifat cenderung polar tersebut mempunyai struktur kimia dengan gugus hidroksil (OH) yang mempunyai kemampuan menangkap radikal bebas. Bersarkan penelitian Pakasi, dll. (2017) bahwa kandungan fenolik pada ekstrak etanol herba suruhan adalah 53,469 mg/kg sedangkan pada ekstrak n-heksan hanya 22,755 mg/kg. Hal tersebut menunjukkan bahwa kandungan fenolik lebih tinggi pada penyarian herba suruhan menggunakan etanol daripada menggunakan pelarut n-heksan [12].

Penyarian dilakukan dengan sesekali diaduk yang bertujuan agar terjadi perputaran pelarut sehingga ekstraksi lebih efektif karena pelarut dapat membasahi ke seluruh permukaan simplisia. Maserat diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 70^{o}C dengan kecepatan 60 rpm dan diangin-anginkan hingga diperoleh ekstrak kental. Rendemen ekstrak herba suruhan yang diperoleh adalah 7,78%.

3.1. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Panjang gelombang setiap senyawa bersifat spesifik sehingga dalam penetapan nilai absorbansi diperlukan penentuan panjang gelombang maksimum. Pada uji aktivitas ini akan ditentukan panjang gelombang maksimum dari senyawa DPPH. Panjang gelombang maksimum adalah panjang gelombang dimana terjadi eksitasi elektronik yang memberikan serapan maksimum. Pembacaan serapan yang dilakukan pada panjang gelombang maksimum akan memberikan kesalahan pembacaan yang paling kecil.

Penentuan panjang gelombang maksimum senyawa DPPH dilakukan pada rentang panjang gelombang 200 nm – 900 nm. Hal ini didasarkan pada penelitian yang dilakukan Robards yang menyebutkan bahwa senyawa DPPH memiliki rentang panjang gelombang yang Panjang [13]. Dari hasil pembacaan absorbansi, nilai tertinggi adalah 2,954 pada panjang gelombang 520 nm. Panjang gelombang maksimum ini yang digunakan untuk mengukur absorbansi sampel karena memiliki kepekaan maksimal yang menghasilkan absorbansi paling besar [14].

3.2. Uji Aktivitas Antioksidan

Keberadaan senyawa antioksidan dalam suatu bahan dapat dideteksi dengan melakukan uji aktivitas antioksidan. Uji aktivitas antioksidan pada herba suruhan menggunakan metode uji DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). Metode uji DPPH adalah salah satu metode yang paling banyak

digunakan untuk memperkirakan efisiensi kinerja dari substansi yang berperan sebagai

Tabel 1. Data Pengukuran Absorbansi Herba Suruhan

Konsentrasi Sampel (µg/ml)	Absorbansi			Aktivitas Antioksidan (%)		
	I	II	III	Replikasi I	Replikasi II	Replikasi III
40	0,441	0,444	0,445	18,79	18,23	18,05
80	0,372	0,373	0,371	31,49	31,31	31,67
120	0,294	0,292	0,291	45,86	46,22	46,41
160	0,221	0,222	0,224	59,30	59,11	58,74
Absorbansi Kontrol Rata-Rata = 0,543				y = 0,3398x + 4,885	y = 0,3439x + 4,33	y = 0,342x + 4,515
Persamaan Regresi Linear				r = 0,9997	r = 0,9996	r = 0,9994
				IC_{50} = 132,77 µg/ml	IC_{50} = 132,80 µg/ml	IC_{50} = 132,99 µg/ml

Sumber: Data Penelitian

antiradikal. Metode uji aktivitas antioksidan dengan menggunakan radikal bebas DPPH dipilih karena merupakan metode yang sederhana, mudah, dan menggunakan sampel dalam jumlah yang sedikit dan waktu yang digunakan lebih singkat.

Senyawa DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) merupakan radikal bebas yang stabil pada suhu kamar dan sering untuk mengevaluasi aktivitas antioksidan beberapa senyawa atau ekstrak bahan alam [15]. Senyawa DPPH merupakan zat yang berperan sebagai penangkap elektron atau penangkap radikal hidrogen bebas. Hasilnya adalah molekul yang bersifat dimagnetik dan stabil. Jika suatu senyawa antioksidan direaksikan dengan zat ini maka senyawa antioksidan tersebut akan menetralkan radikal bebas dari DPPH [16].

Pada pengukuran aktivitas antioksidan, larutan sampel yang telah ditambah larutan DPPH didiamkan selama 60 menit, reaksi ini menyebabkan perubahan warna larutan DPPH dari ungu menjadi ungu pudar. Perubahan inilah yang akan diukur menggunakan spektrofotometri UV Vis panjang gelombang 520 nm. Nilai absorbansi yang diperoleh dari masing-masing konsentrasi digunakan untuk menghitung persen aktivitas antiradikal. Aktivitas antioksidan diperoleh dari nilai absorbansi digunakan untuk menghitung presentase inhibisi 50% (IC_{50}) yang menyatakan konsentrasi ekstrak yang memberikan persen

aktivitas antioksidan senilai 50% dibanding kontrol melalui suatu persamaan garis regresi linier. Semakin kecil nilai IC_{50} maka senyawa tersebut semakin aktif sebagai antioksidan.

Hasil pada tabel 1 menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi sampel maka nilai absorbansi sampel semakin kecil, sehingga semakin besar konsentrasi sampel maka persen aktivitas antiradikal semakin besar pula. Persamaan regresi linear pada data tabel 1 dapat digunakan untuk menghitung IC_{50} karena mempunyai nilai r di atas 0,878. Dengan nilai r mendekati 1 menunjukkan bahwa konsentrasi dengan persen aktivitas memiliki hubungan linear karena semakin besar konsentrasi maka semakin besar pula persen aktivitas antiradikalnya.

IC_{50} merupakan bilangan yang menunjukkan konsentrasi ekstrak (µg/ml) yang mampu menghambat proses oksidasi sebesar 50%. Semakin kecil nilai IC_{50} berarti semakin tinggi aktivitas antioksidan. Secara spesifik suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat jika nilai IC_{50} kurang dari 50 µg/ml, kuat untuk IC_{50} bernilai 50-100 µg/ml, sedang jika bernilai 100-150 µg/ml, dan lemah jika nilai IC_{50} bernilai 151-200 µg/ml [17]. Hasil perhitungan menunjukkan bahwa nilai rata-rata IC_{50} herba suruhan adalah 132,85 µg/ml. Nilai IC_{50} tersebut menunjukkan bahwa herba suruhan memiliki aktivitas antioksidan yang tergolong sedang karena nilai IC_{50} < 150 µg/ml.

Tabel 2. Data Pengukuran Absorbansi Kuersetin

Konsentrasi Sampel (µg/ml)	Absorbansi			Aktivitas Antioksidan (%)		
	I	II	III	Replikasi I	Replikasi II	Replikasi III
0,8	0,569	0,567	0,567	19,63	19,92	19,92
1,2	0,508	0,505	0,509	28,24	28,67	28,11
1,6	0,433	0,437	0,436	38,84	38,28	38,42
2,0	0,368	0,366	0,368	48,02	48,30	48,02
2,4	0,304	0,301	0,302	57,06	57,48	57,34
Absorbansi Kontrol Rata-rata = 0,708				y = 23,66x + 0,502	y = 23,688x + + 0,63	y = 23,688x + 0,462
Persamaan Regresi Linear				r = 0,9995	r = 0,9997	r = 0,9995
				IC_{50} = 2,092 µg/ml	IC_{50} = 2,084 µg/ml	IC_{50} = 2,091 µg/ml

Sumber: Data Penelitian

Nilai rata-rata IC_{50} kuersetin adalah 2,09 µg/ml. Hal ini menunjukkan bahwa kuersetin memiliki daya antiradikal yang sangat kuat karena berada dalam rentang < 50 µg/ml [17]. Kuersetin dalam hal ini digunakan sebagai senyawa pembanding.

Hasil analisis *descriptives* menunjukan nilai rata-rata IC_{50} untuk herba suruhan adalah 132,85 µg/ml. Setelah dilakukan analisa *Test of Homogeneity of Variancess* hasilnya menunjukan bahwa angka probabilitas/ taraf signifikan yaitu 0,023 (kurang dari 0,05) artinya ada perbedaan. Data normal tapi tidak homogen maka salah satu uji yang dapat digunakan yaitu *Independent-Samples T Test.* Hasil analisa pada uji *independent-samples T Test* menunjukan bahwa nilai signifikansinya adalah 0,000 (< 0,05) artinya bahwa nilai IC_{50} dari kedua sampel memiliki nilai yang berbeda. Ekstrak herba suruhan dan kuersetin memiliki perbedaan yang signifikan yang ditunjukan dengan hasil 0,000 < 0,05.

Tabel 1 dan tabel 2 menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi ekstrak maka semakin kecil nilai absorbansinya, dan semakin besar pula aktivitas antioksidan yang diberikan. Hal ini menunjukkan bahwa besarnya konsentrasi dengan persen aktivitas memiliki hubungan yang linear pada hasil aktivitas antioksidan herba suruhan. Penelitian menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan ekstrak etanol herba suruhan juga mempunyai potensi sebagai antioksidan dengan kategori sedang.

3.3. Skrining Fitokimia

Hasil uji skrining fitokimia ekstrak herba suruhan menunjukan bahwa terdapat senyawa bioaktif yaitu alkaloid, flavonoid, polifenol dan steroid, seperti yang ditunjukkan pada tabel 3.

Alkaloid

Pada pengujian alkaloid menunjukan hasil positif dengan terdapatnya endapan merah pada pereaksi dragendorff dan endapan putih pada pereaksi meyer. Pereaksi dragendorff dapat mengendapkan alkaloid karena dalam senyawa alkaloid terdapat gugus nitrogen yang memiliki satu pasang elektron bebas menyebabkan senyawa alkaloid bersifat nukleofilik (basa). Maka dari itu, senyawa alkaloid mampu mengikat ion logam berat (Dragendorff) yang mempunyai muatan positif sehingga terbentuk endapan berwarna merah. Sedangkan pereaksi meyer mengandung kalium iodida dan merkuri klorida, dimana pereaksi ini berikatan dengan alkaloid melalui ikatan koordinasi antara atom N alkaloid dan Hg pereaksi meyer sehingga menghasilkan senyawa kompleks merkuri yang non polar mengendap berwarna putih.

Flavonoid

Sebagian flavonoid merupakan senyawa polar karena mempunyai sejumlah gugus hidroksil. Oleh karena itu, umumnya flavonoid larut dalam pelarut polar seperti etanol. Hasil positif ditunjukkan dengan perubahan warna larutan menjadi kuning kemerahan. Berdasarkan penelitian

Tabel 3. Uji fitokimia Ekstrak Herba Suruhan

Uji Fitokimia	Pereaksi	Hasil Pengamatan	Indikator
Alkaloid	+ H_2SO_4 2 N Dragendorff dan Meyer	Positif (+)	Terbentuk endapan merah dengan pereaksi dragendorff dan terbentuk endapan putih dengan pereaksi meyer.
Flavonoid	H_2SO_4	Positif (+)	Perubahan warna menjadi kuning kemerahan sampai coklat.
Tanin	NaCl 2% dan gelatin 1%	Positif (-)	Tidak terjadi endapan pada larutan.
Polifenol	$FeCl_3$	Positif (+)	Perubahan warna hijau kebiruan
Steroid	Asam asetat anhidrat dan H_2SO_4 p	Positif (+)	Terjadi perubahan warna awal merah menjadi biru kehijauan.

Sumber: Data Penelitian

Rachmawati dan Rantelino (2018) menunjukkan bahwa ekstrak etanolik herba suruhan mengandung flavonoid [18]. Semua golongan flavonoid yang memiliki gugus fenol terlibat dalam efek antioksidan umum, mengurangi peradangan atau pembentukan kanker [19].

Tanin

Tanin akan berekasi dengan gelatin 1% dan akan terjadi pengendapan atau presipitasi, sehingga apabila terjadi endapan maka dapat dinyatakan positif mengandung tanin. Tetapi pada penelitian ini hasil akhir menunjukkan bahwa sampel negatif mengandung tanin, karena tidak terjadi endapan.

Polifenol

Uji polifenol dilakukan untuk memastikan adanya senyawa polifenol dalam herba suruhan yang ditandai dengan perubahan warna hijau kebiruan sampai kehitaman. Hal ini diakibatkan karena pembentukan komplek antara gugus fenol dengan Fe yang terdapat pada pereaksi $FeCl_3$ [9]. Maka setelah dilakukan pengujian sampel, herba suruhan positif mengandung senyawa polifenol.

Steroid

Uji steroid dilakukan dengan cara sampel terlebih dahulu dilarutkan dalam klorofom. Penambahan beberapa tetes asam anhidrat asetat, akan menyebabkan larutan berwarna merah. Setelah itu tambahkan dengan asam sulfat pekat. Apabila terjadi perubahan warna, yang awalnya merah menjadi biru kehijauan, maka senyawa steroid menunjukan hasil yang positif. Hal itu didasarkan pada kemampuan senyawa membentuk warna dengan H_2SO_4 pekat dalam pelarut asam anhidrat asetat [20].

Berdasarkan uji skrining fitokimia diatas menunjukkan adanya beberapa senyawa bioaktif yang dapat berperan sebagai antioksidan, sejalan dengan hasil pada uji antioksidan menggunakan metode DPPH. Senyawa yang terbukti ada pada ekstrak herba suruhan antara lain adalah flavonoid dan polifenol. Senyawa tersebut mempunya gugus OH yang dapat berfungsi sebagai penangkap radikal bebas, sehingga dapat bekerja sebagai antioksidan. Meskipun pada uji tanin, ekstrak herba suruhan negatif kandungan tanin. Tanin juga merupakan salah satu senyawa yang dapat menangkap radikal bebas. Hal ini sejalan dengan penelitian daya antioksidan herba suruhan dimana hasil yang didapat adalah daya antioksidan dalam kategori sedang.

4. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian diperoleh kesimpulan bahwa ekstrak etanolik herba suruhan memiliki aktivitas antioksidan yang tergolong sedang dalam menghambat

antiradikal DPPH, ini ditunjukkan dengan nilai IC_{50} yaitu 132,85 µg/ml. Hal ini sejalan dengan identifikasi senyawa kandungan dengan melakukan uji skrining fitokimia yang menunjukkan bahwa ekstrak etanol herba suruhan mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, polifenol dan steroid.

REFERENSI

[1] Oeinitan, J. Daya Antioksidan Ekstrak Etanol Kulit Buah Manggis (Garcina mangostana Linn.), Hasil Pengadukan Dan Reflux. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Surabaya*. 2013; **1**(2): 1-2

[2] Ukieyanna, E. Aktivitas Antioksidan, Kadar Fenolik,dan Flavonoid Total Tumbuhan Suruhan (*Peperomiapellucida* L Kunth), Departemen Biokimia FMIPA Institut Pertanian Bogor; 2012.

[3] Valko, M., et al. Free Radical, Metal and Antioxidant in Oxidative Stress Inducced Concer, *J. Chem-Biol*. 2006; edisi 160, p. 1-40.

[4] Suryanto, E. *Fitokimia Antioksidan*. Surabaya: Putra Media Nusantara; 2012.

[5] Hariana, H.A. *Tumbuhan Obat dan Khasiatnya Seri 3*. Jakarta: Penebar Swadaya; 2006.

[6] Salamah, N., dan Lina H. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol daun Suruhan (*Peperomia pellucida* [L.] Kunth) dengan metode fosfomolibdat, *Prosiding Simposium Penelitian Bahan Obat Alami (SPBOA)*. Universitas Ahmad Dahlan; 2014

[7] Oleyede, G.K. *Phytochemical, Toxicity, Antimicrobial and Antioxidant Sceening of Leaf Extracts of Peperomia pellucida From Nigeria. Advances in Environmental Biology*. 2011; **5**(12): 3700-3709.

[8] Departemen Kesehatan RI. *Farmakope Indonesia*, Edisi III. Jakarta: Depkes RI; 1979.

[9] Harborne J.B. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Bandung: Terbitan kedua ITB; 1996.

[10] Nurhaeni F. Skrining Aktivitas dan Isolasi Senyawa Penangkap Radikal 2,2-Difenil-1- Pikrilhidrazil Dari Daun Kenikir (Cosma caudatus, H. B. K) Tesis. Universitas Gajah Mada; 2012.

[11] Sitorus E., Momuat L.I., dan Katja D.G. Aktivitas Antioksidan Tumbuhan Suruhan (*Peperomia pellucida* [L.] Kunth), *Jurnal Ilmiah Sains*. 2013; Vol. 13 (2): 80-85.

[12] Pakasi, J.F., Momuat, L.I., dan Koleangan, H.S.J. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Tumbuhan Suruhan (*Peperomia pellucida* [L.] Kunth) pada Asam Linoleat, *Jurnal MIPA UNSRAT Online*. 2017; Vol 6(2): 86-91

[13] Robards. K., Antolovich. M., Paul. D., Patsalides. E., and McDonald. S. Methods For Testing Antioxidant Activity. *Critical Review the Analyst*. 2001; 127, p: 183-198.

[14] Kusumawardhani, N., Sulistyarti, H., dan Atikah. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum dan pH Optimum dalam Pembuatan Tes Kit Sianida Berdasarkan Pembentukan Hidrindantin. *Kimia Student Journal*. 2015; Vol. 1, No. 1, pp. 711-717

[15]Molyneux, P. The Use of The Stable Free Radikal Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxsidant Activity. *Journal Science of Technology*. 2004; **26**(2) : p 211-219

[16] Kristianti F. Perbandingan aktivitas antiradikal ekstrak etanol daun kenikir (Cosmos caudatus L.) Segar dan kukus yang diukur dengan metode DPPH, *Karya Tulis Ilmiah*, Politeknik Kesehatan Bhakti Setya Indonesia; 2014.

[17] Zuhra C.F., Tarigan J.B., dan Sihotang H. Aktivitas Antioksidan Senyawa Flavonoid Dari Daun Katuk (*Sauropus androgunus* (L) Merr). *Jurnal Biologi Sumatera*. 2008; 1(3):7-10.

[18] Rachmawati, F., Rantelino, V., 2018, Uji Toksisitas dan Fitokimia Ekstrak Suruhan (*Peperomia pellucida* L. Kunth), *Bunga Rampai Saintifika FK UKI (nomor 7)*: 51-55.

[19] Bintang, M. *Biokimia: Teknik Penelitian* Edisi 2. Jakarta: Erlangga; 2018.

[20] Ciulei, J. *Methodology for Analysis of Vegetables and Drugs*. Faculty of Pharmacy Bhucharest. 1984; Pp. 11-26.