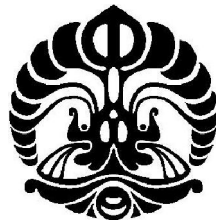


**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK DAUN *Ruellia coerulea*
Morong DAN IDENTIFIKASI GOLONGAN SENYAWA KIMIA DARI FRAKSI
YANG AKTIF**

KATHIE ANGELINA DAVIMA

0305050361



UNIVERSITAS INDONESIA

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

DEPARTEMEN FARMASI

DEPOK

2009

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK DAUN *Ruellia coerulea*
Morong DAN IDENTIFIKASI GOLONGAN SENYAWA KIMIA DARI FRAKSI
YANG AKTIF**

**Skripsi diajukan sebagai salah satu syarat
untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi**

Oleh:

KATHIE ANGELINA DAVIMA

0305050361



DEPOK

2009

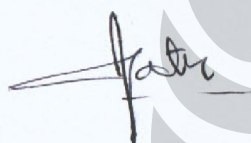
SKRIPSI : UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK DAUN *Ruellia*
coerulea Morong DAN IDENTIFIKASI GOLONGAN
SENYAWA KIMIA DARI FRAKSI YANG AKTIF

NAMA : KATHIE ANGELINA DAVIMA

NPM : 0305050361

SKRIPSI INI TELAH DIPERIKSA DAN DISETUJUI

DEPOK, JUNI 2009



Dr. Katrin, MS

PEMBIMBING I



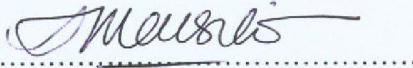
Dr. Berna Elya, MSi

PEMBIMBING II

Tanggal Lulus Ujian Sidang Sarjana : 7 Juli 2009

Penguji I : Dr. Herman Suryadi, MS 

Penguji II : Santi Purna Sari, MSi 

Penguji III : Dr. Amarila Malik, MS 

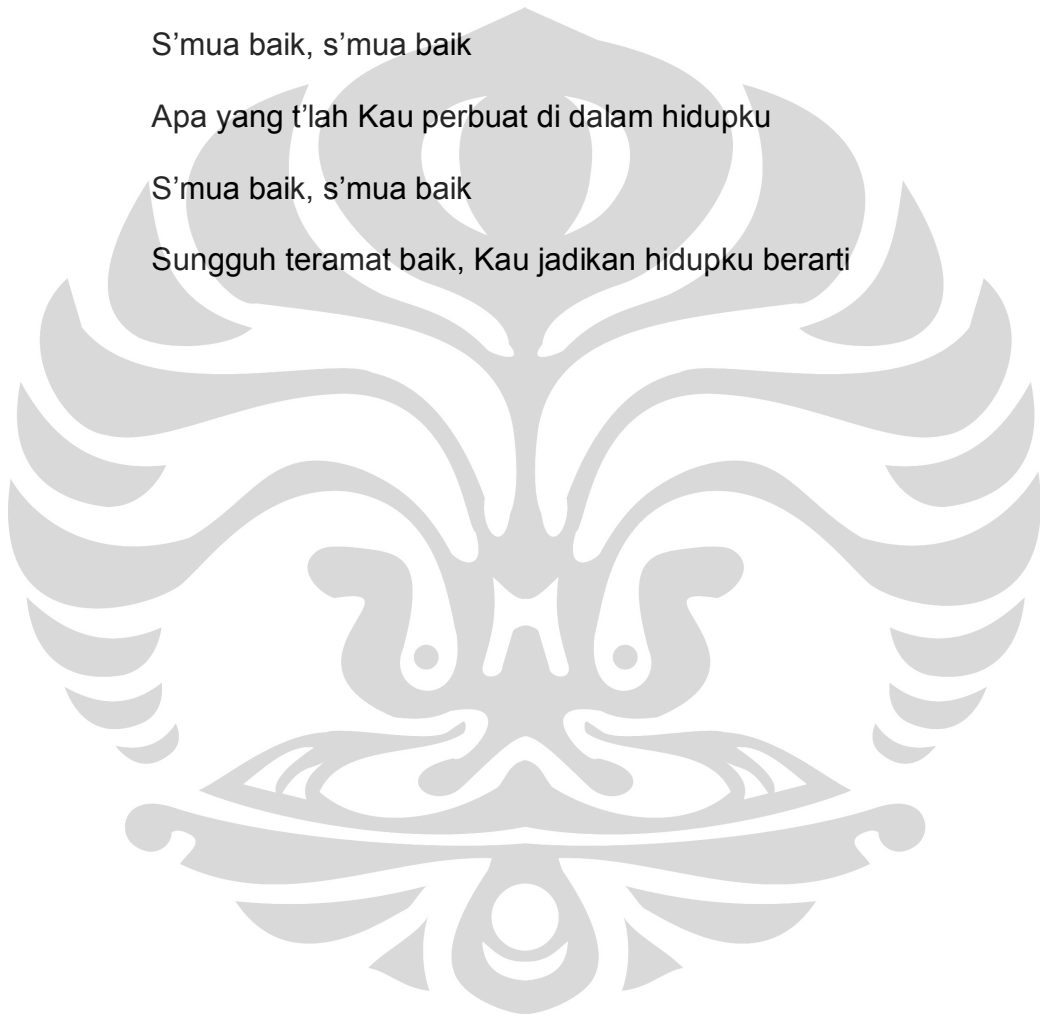
Dari semula, t'lah kau tetapkan
Hidupku dalam tangan-Mu, dalam rencanamu Tuhan
Rencana indah, t'lah Kau siapkan
Bagi masa depanku yang penuh harapan

S'mua baik, s'mua baik

Apa yang t'lah Kau perbuat di dalam hidupku

S'mua baik, s'mua baik

Sungguh teramat baik, Kau jadikan hidupku berarti



*Skripsi ini aku persembahkan
untuk Tuhan, papa, mama, kakak, adik, dan seluruh keluargaku*

KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Tuhan Yesus Kristus atas segala berkat dan karunia-Nya sehingga penulisan skripsi ini selesai tepat pada waktunya. Skripsi ini disusun sebagai syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi pada Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia.

Pada kesempatan ini, penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Ibu Dr. Katrin, MS sebagai pembimbing I, yang telah memberikan kesempatan melakukan penelitian ini dan telah memberikan banyak saran, pengarahan, ilmu dan bantuan yang bermanfaat bagi peneliti.
2. Ibu Dr. Berna Elya, MSi sebagai pembimbing II dan Koordinator Pendidikan program Reguler S1 Farmasi FMIPA UI yang telah membimbing, memberi dukungan dan semangat dalam pengerjaan skripsi ini.
3. Ibu Dr. Yahdiana Harahap, MS sebagai Kepala Departemen Farmasi FMIPA-UI
4. Ibu Dra. Azizahwati, MS sebagai pembimbing akademik yang selama empat tahun perkuliahan telah banyak membimbing dan memberi masukan yang bermanfaat dalam menentukan arah dan minat bidang perkuliahan

5. Bapak Dr. Herman Suryadi, MS, Ibu Santi Purna Sari, Msi, dan Ibu Dr. Amarila, MS sebagai penguji yang telah memberikan masukan bagi kesempurnaan skripsi ini.
6. Seluruh staf pengajar, karyawan, dan laboran Departemen Farmasi FMIPA-UI atas ilmu pengetahuan dan bantuan yang telah diberikan selama menempuh pendidikan khususnya selama penelitian berlangsung
7. Papa dan mama tersayang, Donny Hosea, ND.PhND dan dr. Niniek Yulandari yang selalu memberi kasih sayang, dukungan, semangat dan pengertian hingga usia saat ini. Serta kakak dan adikku, George David dan Sherry Clarissa Z atas dukungan dan bantuan yang telah diberikan.
8. Kak Rahmadiyah, Kak Ulfa, Christinauly, Frans, Susanto, Andita, Safina, Rachel, Nuel, Tias, Asri, Dessy, Seffy dan teman-teman angkatan'05 serta ekstensi yang telah bersama-sama penulis dalam suka dan duka selama mengerjakan penelitian ini. Terima kasih atas bantuan dan perhatian yang telah diberikan.
9. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan namanya satu persatu di atas yang telah membantu kelancaran penelitian dan selama proses pendidikan di Farmasi berlangsung.

Penulis

2009

ABSTRAK

Beberapa tanaman yang berasal dari marga *Ruellia* telah digunakan sebagai obat tradisional. Penelitian terhadap *Ruellia tuberosa* telah menunjukkan aktivitas antioksidan yang baik. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan dan identifikasi golongan senyawa kimia dari daun tanaman *Ruellia coerulea* Morong. Daun dimaserasi berturut-turut menggunakan pelarut n-heksan, etil asetat dan metanol. Potensi antioksidan masing-masing ekstrak diukur menggunakan metode 1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH). Ekstrak etil asetat menunjukkan aktivitas terbesar dengan IC_{50} 203,401 ppm. Ekstrak etil asetat kemudian difraksinasi dengan menggunakan kromatografi kolom dipercepat dengan eluen campuran yaitu n-heksan–etil asetat kemudian etil asetat–metanol dengan kepolaran yang semakin meningkat. Hasil fraksinasi diperoleh 12 fraksi (fraksi A-fraksi L). Hasil uji aktivitas antioksidan menunjukkan bahwa fraksi J mempunyai aktivitas antioksidan terbesar dengan nilai IC_{50} 205,759 ppm. Hasil identifikasi fraksi J menunjukkan adanya golongan glikosida, senyawa fenol dan steroid/triterpenoid.

Kata kunci : *Ruellia coerulea* Morong; Aktivitas antioksidan; 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH); identifikasi senyawa kimia

Xi + 48 hlm.: gbr.;lamp.;tab.

Bibliografi: 27 (1979-2006)

ABSTRACT

Ruellia species have been used as folk medicines. Research has revealed that *Ruellia tuberosa* possesses potent antioxidant activity. This research investigated antioxidant activity and identifies the chemical compound from *Ruellia coerulea* Morong leaves. The leaves were macerated with n-hexane, ethyl acetate, methanol respectively. The antioxidant potencies of each extract were measured using 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) method. Ethyl acetate extract showed the greatest activities with IC_{50} value of 203,401 ppm. Ethyl acetate extract then fractionated using vacuum liquid chromatography by combination of n-hexane-ethyl acetate followed by ethyl acetate-methanol with increased polarity. The fractionation obtained twelve fractions (fraction A-fraction L). The antioxidant activities assay showed that fraction J has greatest antioxidant activities with IC_{50} value of 205,759 ppm. Identification of fraction J revealed that the fraction contains glycoside, phenolic compound and steroid/triterpenoid.

Keyword: *Ruellia coerulea* Morong; Antioxidant activity; 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH); identification of chemical compound

Xi + 48 pages: pic.; app.; tab.

Bibliography: 27 (1979-2006)

DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR	i
ABSTRAK	iii
ABSTRACT	iv
DAFTAR ISI	v
DAFTAR GAMBAR	vii
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR LAMPIRAN.....	ix
BAB I. PENDAHULUAN	
A. LATAR BELAKANG	1
B. TUJUAN PENELITIAN	3
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	
A. <i>RUELLIA COERULEA</i> MORONG	4
B. EKSTRAK DAN METODE EKSTRAKSI	7
C. RADIKAL BEBAS	9
D. ANTIOKSIDAN	10
F. METODE UJI ANTIOKSIDAN	12
G. KROMATOGRAFI	13

BAB III. BAHAN, ALAT DAN CARA KERJA

A. BAHAN	16
B. ALAT.....	17
C. CARA KERJA.....	17

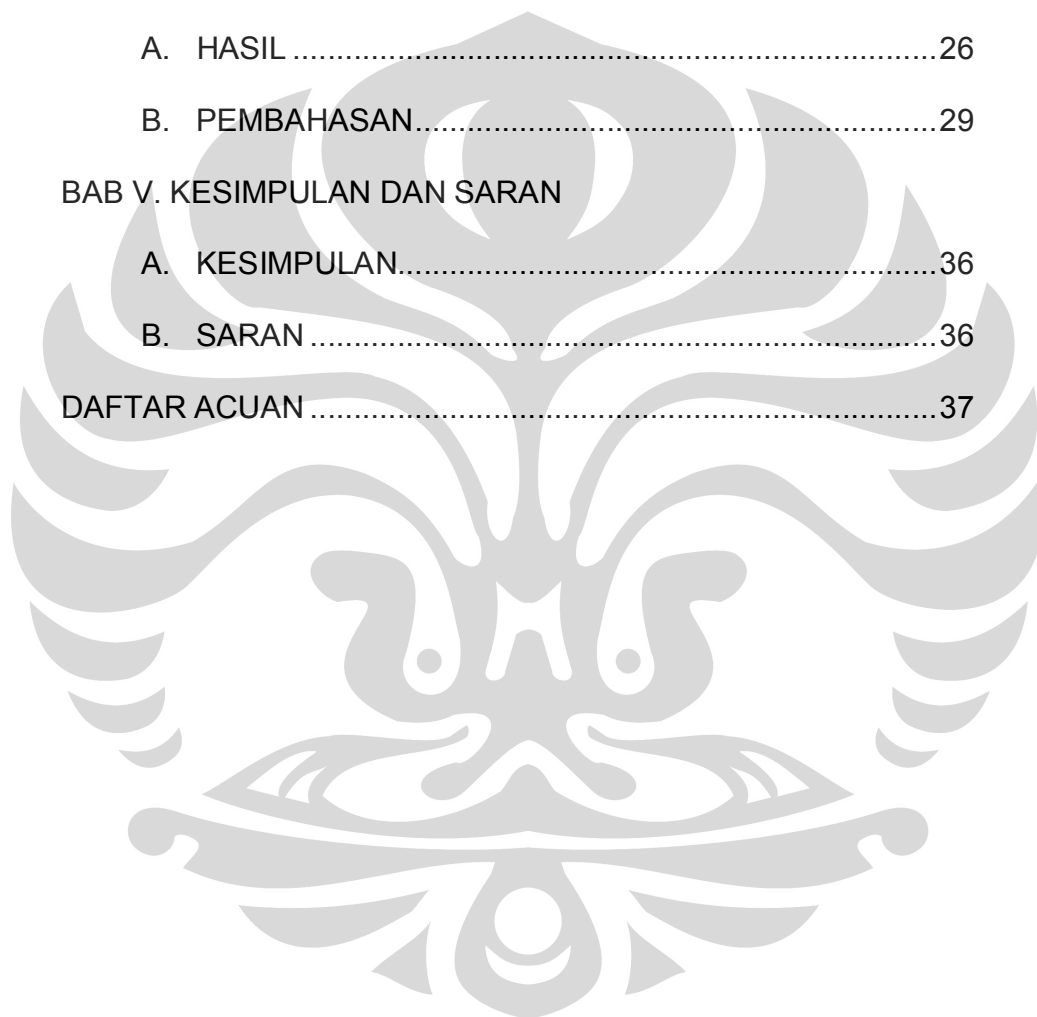
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. HASIL	26
B. PEMBAHASAN.....	29

BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN

A. KESIMPULAN.....	36
B. SARAN	36

DAFTAR ACUAN	37
--------------------	----

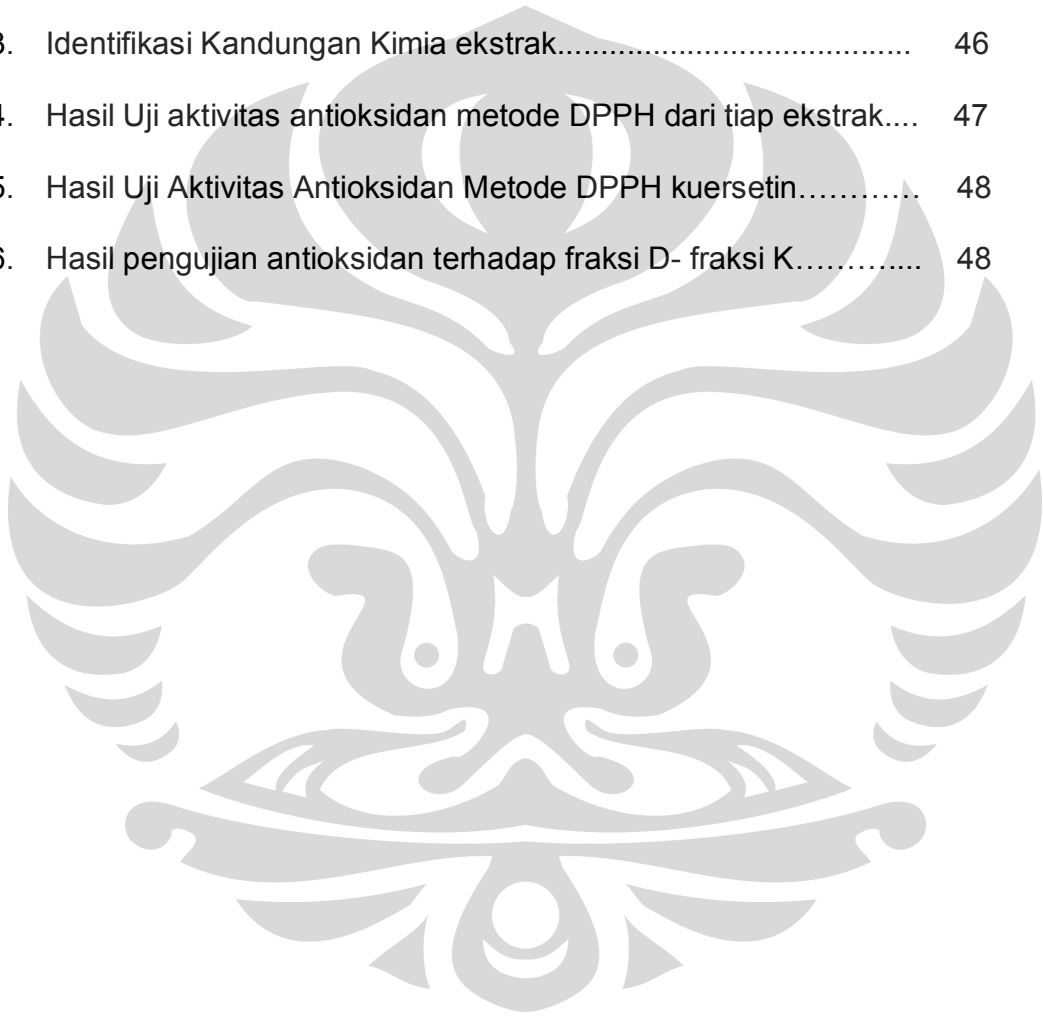


DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Kandungan senyawa kimia beberapa tanaman dari marga <i>Ruellia</i>	6
2. Tanaman <i>Ruellia coerulea</i> Morong.....	40
3. Bagan Ekstraksi serbuk simplisia.....	41
4. Bagan kromatografi kolom.....	42
5. Hasil Uji Pendahuluan Antioksidan terhadap ekstrak.....	43
6. Hasil Uji Pendahuluan Antioksidan 12 fraksi.....	43
7. Reaksi DPPH dengan senyawa antioksidan.....	44

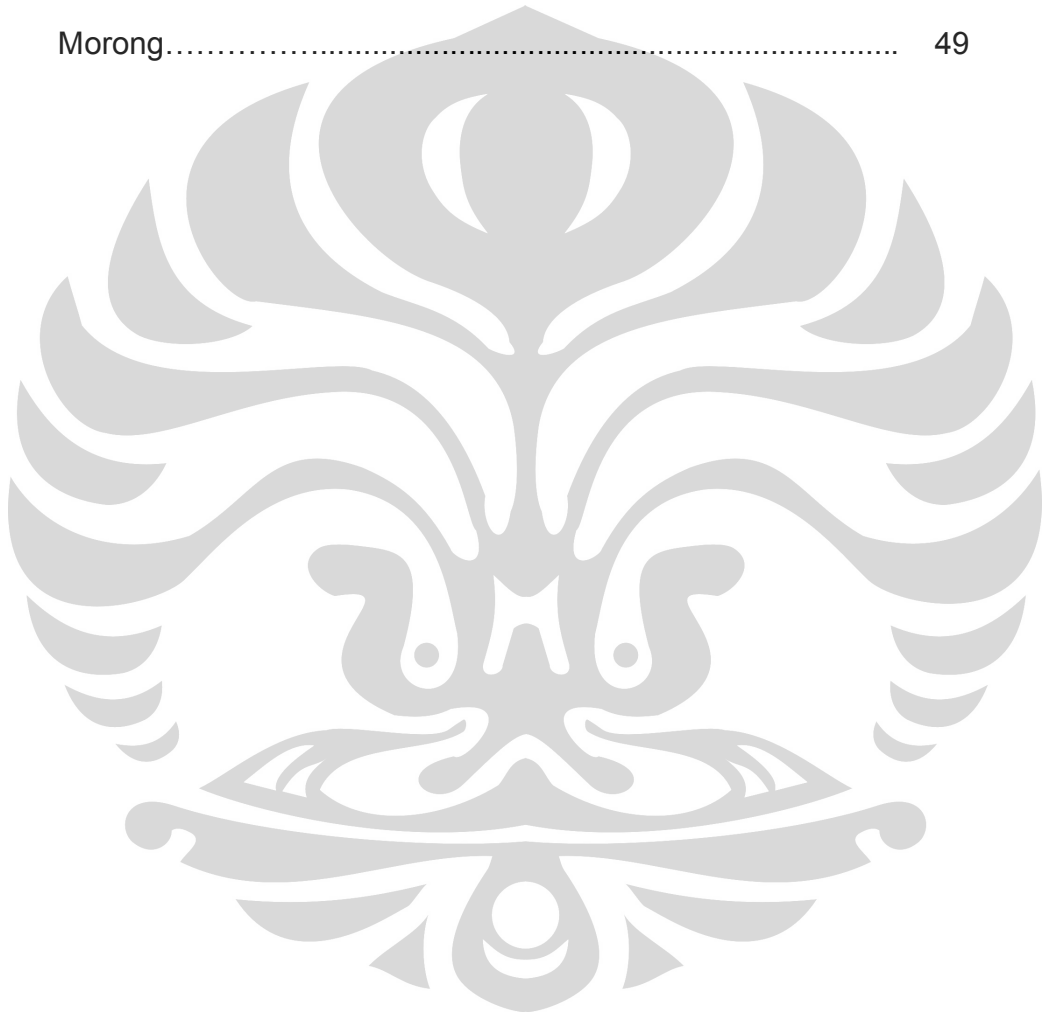
DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Persentase daun <i>Ruellia coerulea</i> Morong kering terhadap daun <i>Ruellia coerulea</i> Morong segar.....	45
2. Rendemen Ekstrak daun <i>Ruellia coerulea</i> Morong.....	45
3. Identifikasi Kandungan Kimia ekstrak.....	46
4. Hasil Uji aktivitas antioksidan metode DPPH dari tiap ekstrak....	47
5. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Metode DPPH kuersetin.....	48
6. Hasil pengujian antioksidan terhadap fraksi D- fraksi K.....	48



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Hasil scan surat determinasi tanaman <i>Ruellia coerulea</i> Morong.....	49



BAB I

PENDAHULUAN

A. LATAR BELAKANG

Negara Indonesia merupakan suatu wilayah yang subur dan memiliki beragam jenis flora dan fauna. Salah satu bentuk keanekaragaman jenis flora ini berupa tanaman berbunga. Beberapa jenis tanaman berbunga mempunyai potensi besar yang dapat dimanfaatkan dalam penemuan obat-obat baru yang bermanfaat bagi masyarakat. Sebagai contoh tanaman Kembang Sepatu (*Hibiscus rosa sinensis*) yang dapat digunakan daun dan bunganya sebagai obat mimisan, bunga Teratai (*Nelumbo nucifera* Gaertn.) yang seluruh bagian tanaman berkhasiat obat, Kembang kertas (*Zinnia elegans* Jacq.) untuk mengatasi disentri dan tanaman berbunga lain yang telah dimanfaatkan dalam dunia kesehatan Indonesia (1). Salah satu jenis tanaman berbunga yang saat ini banyak ditanam dan dapat ditemukan di beberapa wilayah Indonesia adalah *Ruellia coerulea* Morong.

Beberapa tanaman yang dengan marga *Ruellia* telah digunakan dalam pengobatan tradisional dan beberapa diantaranya juga telah diteliti khasiatnya bagi tubuh. Di antaranya *R. prostrata* dan akar tumbuhan *R. suffruticosa* yang digunakan untuk mengobati gonorrhea. *R. repens* telah digunakan di Cina sebagai obat sakit gigi, sakit perut, batuk dan luka bakar.

Bagian daun tanaman *R. napifera* digunakan dalam pengobatan batu ginjal (2). Daun *R. tuberosa* telah digunakan sebagai obat sakit gigi, demam, dan bronkitis kronis. Bagian akar tanaman ini juga telah digunakan sebagai diuretik, penanganan pada penyakit ginjal dan diabetes. Dekok dari seluruh bagian tanaman umum digunakan untuk pengobatan asma, influenza dan demam (3).

Pada tanaman *Ruellia tuberosa* diketahui mengandung senyawa flavonoid, senyawa terpen dan fitosterol (3,4). Daun tanaman *R. napifera* memiliki kandungan kimia saponin, flavonoid, dan polifenol. *R. patula* mengandung senyawa flavonoid dan sapogenin (3).

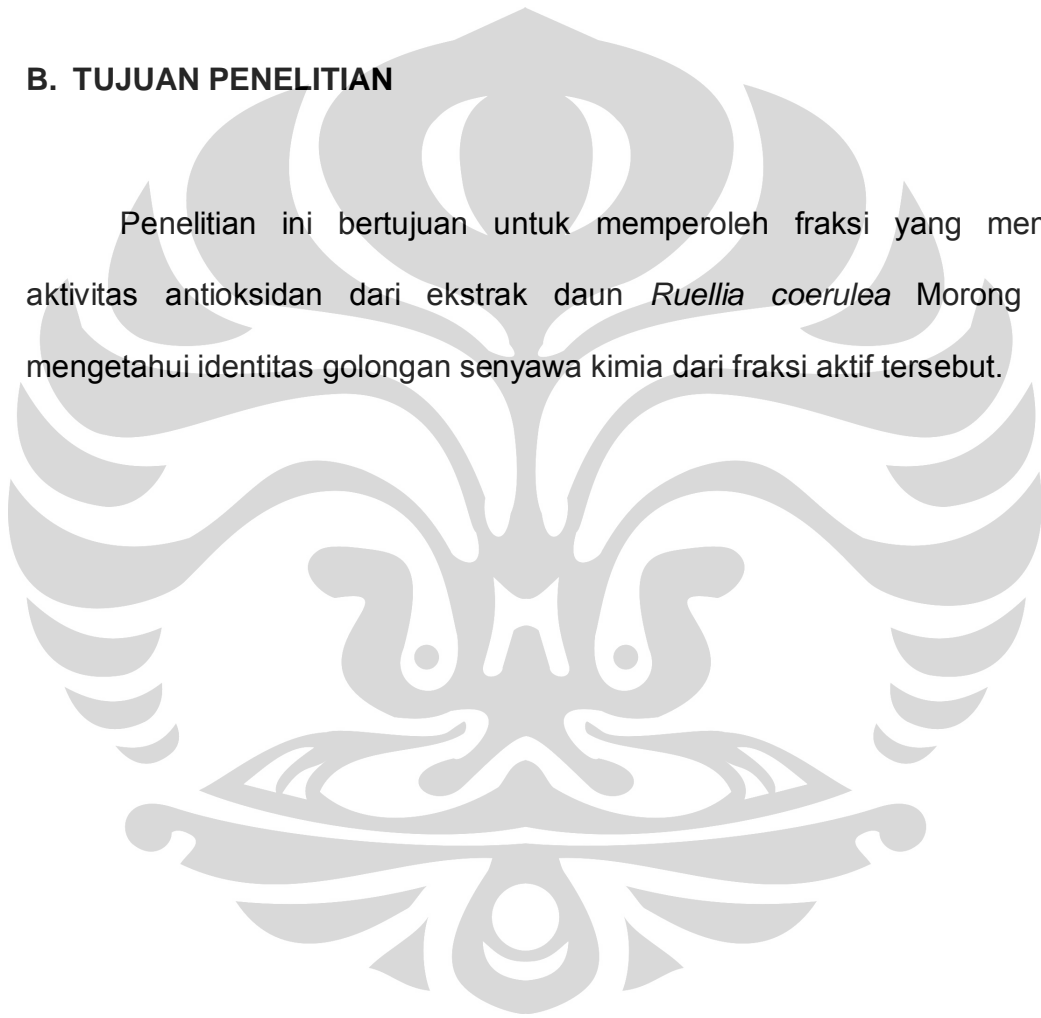
Peneliti terdahulu telah melakukan penelitian terhadap *R. patula* dan *R. brittoniana* yang terbukti memiliki efek kardiotonik (2). Peneliti lain melakukan pengujian aktivitas antioksidan pada tanaman *Ruellia tuberosa* dengan metode 1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) dan metode *hydrogen peroxide-induced luminol chemiluminescence*. Berdasarkan penelitian tersebut diketahui *R. tuberosa* memiliki potensi aktivitas antioksidan yang baik (5).

Ruellia coerulea Morong mempunyai marga yang sama dengan *Ruellia tuberosa* tetapi belum banyak diteliti. Pada penelitian ini dilakukan identifikasi kandungan kimia dan pengujian aktivitas antioksidan pada tanaman *Ruellia coerulea* Morong. Pembuatan ekstrak dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut yang semakin meningkat kepolarannya yaitu n-heksan, etil asetat, dan metanol. Setiap ekstrak

kemudian diukur daya antioksidan yang kemudian dibandingkan satu sama lain. Ekstrak yang memiliki aktivitas antioksidan terbesar kemudian dipisahkan dengan kromatografi kolom (KK) dan kromatografi lapis tipis (KLT), fraksi yang diperoleh kemudian diidentifikasi.

B. TUJUAN PENELITIAN

Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh fraksi yang memiliki aktivitas antioksidan dari ekstrak daun *Ruellia coerulea* Morong dan mengetahui identitas golongan senyawa kimia dari fraksi aktif tersebut.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. *Ruellia coerulea* Morong

1. Klasifikasi

Tanaman ini dapat diklasifikasikan sebagai berikut (6) :



Dunia	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Bangsa	: Scrophurales
Suku	: Acanthaceae
Marga	: <i>Ruellia</i>
Jenis	: <i>Ruellia coerulea</i> Morong

2. Morfologi

Tanaman dengan marga *Ruellia* memiliki 300 spesies yang tersebar di wilayah subtropikal maupun tropikal di seluruh dunia. Secara umum, tanaman dengan marga *Ruellia* memiliki bunga tunggal atau berpasangan pada bagian atas ketiak daun (7). Pada tanaman *Ruellia coerulea* Morong, bunga tunggal

tumbuh pada bagian ketiak daun dan berwarna ungu. Tanaman ini memiliki helai daun berbentuk garis atau lanset memanjang dengan panjang 8-27 cm dan lebar daun 0,7-2 cm serta letak daun yang bersilangan (8).

3. Ekologi, Penyebaran, dan budidaya

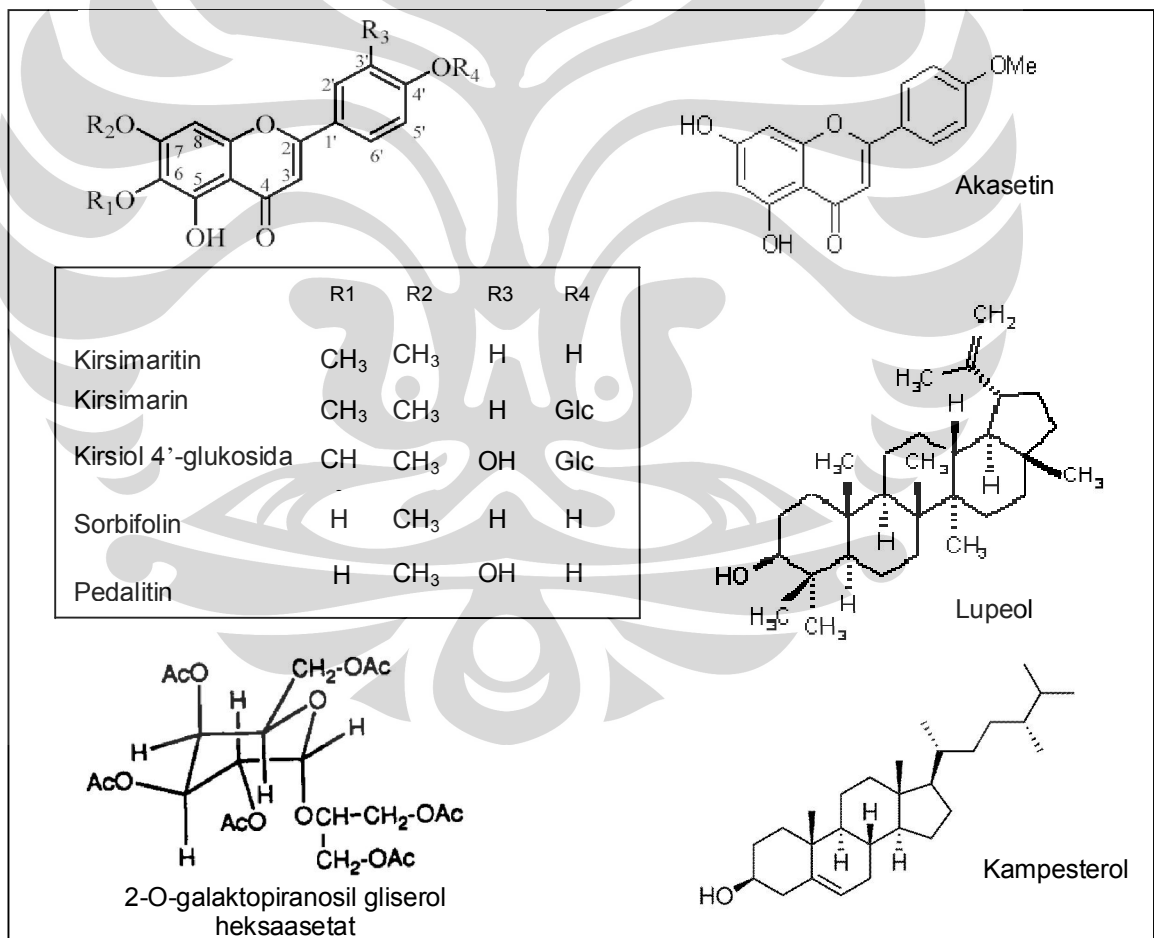
Spesies ini dibudidayakan secara luas di Amerika dan populasi asalnya dilaporkan berasal dari daerah Meksiko dan beberapa wilayah Amerika Selatan seperti Argentina, Bolivia, Brazil, Paraguay, dan Uruguay (9).

Kondisi tumbuh yang optimal diperoleh jika terkena penyinaran matahari penuh dan kondisi tanah yang cukup air. Namun tanaman ini memiliki daya tahan terhadap kondisi kekeringan. Selain itu, tanaman ini hanya memerlukan perawatan yang minimal. Tanaman *Ruellia coerulea* Morong dapat diperbanyak melalui pemotongan (stek) (10).

4. Kandungan Kimia

Kandungan kimia yang terdapat dalam *Ruellia coerulea* Morong belum diteliti, namun beberapa tanaman dari marga yang sama telah diteliti. Salah satu diantaranya adalah *Ruellia tuberosa*, pada bagian akar diketahui mengandung triterpenes (lupeol), fitosterol (sitosterol, stigmasterol, dan kampesterol), 2,6-Dimetoksikuinon, dan akasetin, sedangkan pada daun dan

bunga telah diisolasi senyawa apigenin-7- β -D-glukoronida. Dari tanaman ini telah pula diisolasi senyawa golongan flavonoid yaitu kirsimaritin, kirsamarin, kirsiol 4'-glikosida, sorbifolin, dan pedalitin. *Ruellia brittoniana* telah mengandung senyawa 2-O-galaktopiranosil gliserol heksaasetat. Tanaman *Ruellia patula* mengandung senyawa lioniresinol-9-O- β -D-glukopiranosida dan 5,5-dimetoksi.larisiresinol-9-O- β -glukopiranosida yang merupakan suatu lignan. Rumus struktur kandungan senyawa kimia yang terdapat pada tanaman *Ruellia* dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Kandungan senyawa kimia beberapa tanaman dari marga *Ruellia*

B. EKSTRAK DAN METODE EKSTRAKSI

Ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi zat 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 (11). Untuk memperoleh ekstrak tersebut, diperlukan suatu metode ekstraksi yang tepat. Ekstraksi adalah kegiatan penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut cair.

Ekstraksi dengan menggunakan pelarut dapat dilakukan dengan beberapa cara yaitu (12):

1. Cara dingin

a. Maserasi

Maserasi adalah proses pengekstrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan.

b. Perkolasi

Perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai sempurna yang umumnya dilakukan pada temperatur ruangan. Proses terdiri dari tahap pengembangan bahan, tahap maserasi antara, tahap perkolasi, terus-menerus hingga diperoleh ekstrak yang jumlahnya 1-5 kali bahan.

2. Cara panas

a. Refluks

Pada metode ini, ekstraksi dilakukan dengan pelarut pada temperatur titik didihnya, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Umumnya dilakukan pengulangan sampai 3-5 kali hingga diperoleh ekstraksi sempurna.

b. Soxhlet

Ekstraksi dengan menggunakan pelarut yang selalu baru yang umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi kontinu dengan jumlah pelarut relatif konstan dengan adanya pendingin balik.

c. Digesti

Digesti merupakan maserasi kinetik (dengan pengadukan kontinu) pada temperatur yang lebih tinggi dari temperatur kamar. Umumnya dilakukan pada temperatur 40°-50°C.

d. Infus

Infus adalah ekstraksi dengan pelarut air pada temperatur penangas air (bejana infus tercelup dalam penangas air mendidih, temperatur terukur 96°-98°C) selama selang waktu 15-20 menit.

e. Dekok

Dekok adalah ekstraksi dengan pelarut air pada temperatur penangas air seperti dengan waktu yang lebih lama dan pada temperatur sampai titik didih.

C. RADIKAL BEBAS

Radikal bebas merupakan atom, molekul atau senyawa yang sangat tidak stabil struktur atom ataupun molekulnya sehingga bersifat reaktif. Radikal bebas akan bereaksi dalam berbagai cara untuk membentuk molekul yang stabil.

Reaksi yang mungkin terjadi adalah :

1. Radikal bebas berinteraksi dengan molekul lain yang memiliki atom hidrogen bebas sehingga radikal menjadi stabil sedangkan molekul yang mendonorkan hidrogen menjadi radikal bebas.
2. Dua radikal bebas bereaksi satu sama lain untuk membentuk senyawa stabil.
3. Dua senyawa radikal yang identik bereaksi dan salah satu radikal memberi elektron kepada yang lain. Dengan demikian terbentuk dua molekul berbeda yang stabil.
4. Radikal bebas berikatan dengan molekul yang stabil dan mengubah molekul yang diikat menjadi tidak stabil.

Salah satu senyawa yang erat kaitannya dengan radikal bebas adalah oksigen. Oksigen sangat berperan dalam berbagai reaksi biokimia tubuh. Namun oksigen ini juga merupakan awal dari terbentuknya radikal bebas yang lebih dikenal dengan nama *Reactive oxygen species* (ROS). Beberapa ROS yang dapat merugikan tubuh, yaitu anion superoksida ($O_2^{\cdot-}$), radikal

hidroksil ($\text{OH}\cdot$), hidrogen peroksida (H_2O_2), peroksil ($\text{ROO}\cdot$), alkoksil ($\text{RO}\cdot$), nitrogen monooksida ($\text{NO}\cdot$), oksigen tunggal ($^1\text{O}_2$), dan lain-lain (13,14, 15).

ROS menyebabkan kerusakan terhadap berbagai unsur penting dalam tubuh. ROS menyerang dan merusak rantai asam lemak tak jenuh yang merupakan komponen penting dari membran fosfolipid mitokondria, mikrosom, dan lisosom. Selain itu ROS bereaksi dengan protein yang mengakibatkan kerusakan dan inaktivasi reseptor, enzim, dan sebagainya. Lipoprotein dalam tubuh juga mengalami modifikasi yang memacu aterosklerosis (14).

ROS dapat berasal dari proses metabolisme tubuh atau faktor dari luar seperti radiasi, ozon, rokok, polusi udara dan industri kimia. Keberadaan radikal bebas yang berlebih dapat memicu kanker, inflamasi, aterosklerosis, rematik, jantung koroner, katarak dan penyakit degeneratif lainnya. Resiko terkena penyakit ini dapat dikurangi dengan meningkatkan konsumsi antioksidan yang banyak terdapat pada makanan (15,16,17).

D. ANTIOKSIDAN

Antioksidan adalah suatu zat yang mudah teroksidasi dan mampu menunda atau mencegah terjadinya oksidasi substrat serta dapat bersifat sebagai penangkap radikal bebas, peredam singlet oksigen atau penghambat elektron. Berdasarkan sumbernya, dibagi menjadi dua kelompok yaitu antioksidan sintetik dan antioksidan alami. Antioksidan sintetik misalnya butil

hidroksi anisol (BHA), butil hidroksi toluen (BHT), propil galat, dan t-butil hidrokuinon (TBHQ). Sedangkan contoh antioksidan alami adalah asam askorbat, α -tokoferol, β -karoten, senyawa flavonoid, senyawa polifenol (lignin), serta asam nordihidroguairetat (NDGA) (18).

Antioksidan dapat pula digolongkan ke dalam dua kelas yaitu antioksidan preventif yang akan mengurangi kecepatan dimulainya rangkaian reaksi dan antioksidan pemutus rantai reaksi yang akan memutuskan perbanyakannya reaksi yang berantai. Antioksidan pemutus rantai seringkali berupa senyawa fenol, amin, atau amina-fenol (19). Antioksidan preventif umumnya merupakan antioksidan enzimatik yang alami terdapat dalam tubuh. Antioksidan enzimatik mencakup enzim katalase, superoksida dismutase (SOD) dan glutathion peroksidase (GSH Px). Mekanisme kerja masing-masing antioksidan enzimatik adalah sebagai berikut (14):

1. superoksida dismutase (SOD)



2. enzim katalase



3. glutathion peroksidase (GSH Px)



E. METODE UJI ANTIOKSIDAN

Aktivitas antioksidan suatu senyawa kimia dapat dilakukan dengan beragam metode. Beberapa metode yang lazim digunakan antara lain (20) :

1. Uji Konjugasi Diena

Dengan metode ini dapat dihitung konjugasi diena yang terbentuk akibat oksidasi awal *Poly Unsaturated Fatty Acid* (PUFA). Data diperoleh dengan mengukur absorpsi UV pada panjang gelombang 234 nm. Prinsip uji ini adalah pada waktu oksidasi asam linoleat, ikatan rangkap diubah menjadi ikatan rangkap konjugasi yang dapat dideteksi dengan adanya absorpsi UV pada panjang gelombang 234 nm. Aktivitas ini dapat dilihat dari konsentrasi inhibisi yang diperoleh.

2. FRAP (*Ferric Reducing Ability of Plasma*)

Metode ini merupakan salah satu metode yang cepat dan sangat berguna untuk analisa rutin. Aktivitas antioksidan diperkirakan dengan mengukur peningkatan absorbansi akibat terbentuknya ion Fe dari pereaksi FRAP yang mengandung TPTZ (2,4,6-tri(2-piridil)-s-triazin) dan $\text{FeCl}_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$. Absorpsi diukur dengan menggunakan spektrofotometer pada 595 nm.

3. Metode Fosfomolibdat

Metode ini digunakan untuk mengukur secara kuantitatif kapasitas antioksidan melalui terbentuknya kompleks fosfomolibdat. Uji ini berdasarkan

reduksi Mo (VI) menjadi Mo (V) oleh sampel uji dan pembentukan kompleks fosfat Mo (V) berwarna hijau pada pH asam.

4. Reaksi dengan 1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH)

Metode ini paling banyak digunakan dalam skrining aktivitas antioksidan pada tanaman obat. Uji DPPH berdasarkan reduksi larutan metanol dari radikal bebas DPPH oleh penghambat radikal bebas. Prosedur pengujian melibatkan pengukuran penurunan absorpsi DPPH pada panjang gelombang maksimum 516 nm. Penurunan ini sebanding dengan konsentrasi penghambat radikal bebas yang ditambahkan pada larutan DDPH. Aktivitas ditunjukkan sebagai konsentrasi efektif yang mampu meredam radikal sebesar 50% (IC_{50}).

Selain empat metode tersebut, banyak metode lain yang dapat dilakukan untuk mengetahui aktivitas antioksidan. Metode tersebut antara lain metode ABTS (*2,2-Azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonicacid)*) garam diamonium, metode DMPD (*N,N-Dimethyl-p-phenylene-diamine dihydrochloride*), pengukuran aktivitas penghambatan radikal superoksida, pengukuran aktivitas penghambatan radikal hidroksil, dan pengukuran aktivitas penghambatan radikal oksida nitrit.

F. KROMATOGRAFI

Kromatografi adalah prosedur pemisahan zat terlarut oleh suatu proses migrasi differensial dinamis dalam sistem yang terdiri dari dua fase atau lebih.

Salah satu fase bergerak dalam arah tertentu dan di dalamnya zat-zat itu menunjukkan perbedaan mobilitas disebabkan adanya perbedaan adsorpsi, partisi, kelarutan, tekanan uap, ukuran molekul atau kerapatan muatan ion. Dengan pemisahan ini, masing-masing zat dapat diidentifikasi dengan metode analitik.

Secara umum, teknik kromatografi menggunakan dua fase yaitu fase gerak dan fase diam. Fase gerak membawa zat terlarut melalui media hingga terpisah dari zat terlarut lainnya. Berdasarkan bentuk fase gerak, kromatografi dapat dibagi menjadi kromatografi cair (KC) dan kromatografi gas (KG). Fase diam dapat bertindak sebagai zat penjerap (contohnya alumina, silika gel dan resin penukar ion) atau bertindak melarutkan zat terlarut sehingga terjadi partisi antara fase diam dan fase gerak.

Jenis kromatografi yang umum digunakan dalam analisis senyawa alam adalah kromatografi kolom (KK), kromatografi kertas (KKt), kromatografi lapis tipis (KLT), dan kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT).

Kromatografi kertas dan kromatografi lapis tipis umumnya digunakan untuk identifikasi. Pada kromatografi lapis tipis, zat penjerap merupakan lapisan tipis serbuk halus yang dilapiskan pada lempeng kaca, plastik, atau logam secara merata. Perkiraan identifikasi diperoleh dengan pengamatan bercak dengan harga R_f yang identik dan ukuran yang hampir sama, dengan menotolkan zat uji dan baku pembanding pada lempeng yang sama (11,23). Harga R_f diperoleh dengan mengukur jarak antara titik awal dan garis depan. Metode KLT preparatif dapat pula digunakan untuk tujuan isolasi bahan alam.

Isolasi bahan alam sering menggunakan fase gerak biner seperti n-heksan-etil asetat, n-heksan-aseton, dan kloroform-metanol (24).

Lain halnya dengan kromatografi kolom yang memerlukan peralatan sederhana, terdiri dari tabung kromatografi dan sebuah batang pemampat yang diperlukan untuk memadatkan wol kaca atau kapas pada dasar tabung serta memadatkan zat penjerap secara merata di dalam tabung. Pada kromatografi kolom adsorpsi digunakan zat penjerap seperti alumunium oksida yang telah diaktifkan, silika gel, dan tanah diatome terkalsinasi. Zat penjerap ini dapat dimasukkan dalam kolom dalam kondisi kering atau dicampur dengan air. Zat uji dilarutkan dalam sejumlah kecil pelarut, dituangkan ke dalam kolom dan dibiarkan mengalir ke dalam zat penjerap. Zat berkhasiat diadsorpsi dari larutan secara kuantitatif oleh bahan penjerap. Melalui penambahan pelarut lebih lanjut ke dalam kolom dan dengan adanya gaya gravitasi, masing-masing zat bergerak turun dalam kolom dengan kecepatan tertentu sehingga terjadi pemisahan (11).

BAB III

BAHAN DAN CARA KERJA

A. BAHAN

a. Bahan Uji

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun yang berasal dari tanaman *Ruellia coerulea* Morong yang diperoleh dari sekitar lingkungan Universitas Indonesia dan telah dideterminasi di Herbarium Bogoriense (LIPI),Cibinong. Tanaman ini dapat dilihat pada Gambar 2.

b. Bahan Kimia

Pelarut n-heksana, etil asetat, dan metanol teknis yang telah didestilasi, asam klorida 2N, besi (III) klorida, serbuk magnesium, serbuk seng, timbal (II) asetat, pereaksi natrium klorida-gelatin LP, Mayer LP, Dragendorff LP, Bouchardat LP, larutan gelatin 1%, Molisch LP, Baljet LP, etil asetat p.a (Merck), n-heksan p.a (Merck), asam sulfat pekat (Merck), asam sulfat encer P, 1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil (Wako), kuersetin (SIGMA), silika gel 60 (Merck) dan serbuk silika gel 60 H (Merck).

B. ALAT

Alat yang digunakan dalam penelitian ini, antara lain : blender, oven, *shaker*, penangas air, *rotary evaporator*, lempeng silika gel F 254 (Merck), kolom kromatografi, timbangan analitik, cawan penguap, alat-alat gelas, bejana kromatografi, lampu Ultraviolet, dan spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu 1601).

C. CARA KERJA

1. Penyiapan Simplisia Uji

Daun *Ruellia coerulea* Morong yang digunakan adalah daun yang terletak pada ruas kedua hingga keenam. Daun *Ruellia coerulea* Morong yang telah dikumpulkan selanjutnya dibersihkan dari pengotor dan dicuci dengan air mengalir hingga bersih. Daun tersebut dikeringkan di udara terbuka dan terlindung dari sinar matahari langsung kemudian dilanjutkan dengan pengeringan menggunakan oven pada suhu 40°C dan dihitung persentase perbandingan daun kering terhadap daun segar. Simplisia yang telah kering diserbuk menggunakan blender dan diayak dengan ayakan 50 mesh.

2. Pembuatan Ekstrak

Serbuk kering simplisia sebanyak 700 g dimasukkan ke dalam bejana kemudian diekstraksi dengan cara maserasi menggunakan pelarut dengan kepolaran yang meningkat. Simplisia diekstraksi pertama kali dengan pelarut n-heksan menggunakan *shaker*. Proses ekstraksi diulang sebanyak 5 kali. Ampas dipisahkan dari filtrat dengan cara disaring, selanjutnya filtrat yang didapat dipekatkan. Ampas hasil ekstraksi dengan n-heksan kemudian dimaserasi dengan etil asetat. Proses maserasi dilakukan berulang sebanyak 6 kali. Ampas dimaserasi kembali dengan metanol sebanyak 5 kali. Pada setiap proses maserasi digunakan 1,5 liter pelarut dengan pengocokan selama 6 jam kemudian didiamkan selama 18 jam. Maka akan diperoleh ekstrak simplisia dalam n-heksan, etil asetat, dan metanol. Masing-masing ekstrak yang diperoleh diuapkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 50°C. Pengeringan dilanjutkan dengan menggunakan penangas air hingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak yang diperoleh kemudian ditimbang untuk mengetahui rendemennya. Bagan ekstraksi dapat dilihat pada Gambar 3.

3. Identifikasi Golongan Senyawa Kimia

Identifikasi dilakukan untuk mengetahui golongan senyawa kimia yang terdapat dalam simplisia. Pemeriksaan golongan senyawa kimia ini dilakukan secara kualitatif menggunakan berbagai pereaksi yang sesuai.

a. Identifikasi Alkaloid

Sebanyak 1 g serbuk simplisia ditambahkan 2 ml asam klorida 2 N dan 18 ml etanol, kemudian panaskan selama 5 menit. Larutan tersebut didinginkan dan kemudian disaring. Filtrat yang diperoleh ditambahkan pereaksi Bouchardat LP, Dragendorff LP, dan Mayer LP.

Pada penambahan pereaksi Bouchardat LP, hasil positif mengandung alkaloid ditandai dengan terbentuknya endapan coklat sampai hitam. Jika setelah ditambahkan pereaksi Dragendorff LP terbentuk endapan merah bata maka kemungkinan terdapat alkaloid. Penambahan pereaksi Mayer LP menunjukkan hasil positif jika terdapat endapan putih atau kuning yang larut dalam metanol (23).

b. Identifikasi Flavonoid

Untuk mengetahui adanya flavonoid, ekstraksi 500 mg serbuk simplisia dengan HCl 2 M pada penangas air 100°C selama 30 menit. Saring melalui kertas saring kemudian ekstrak yang diperoleh ditambahkan etil asetat P (24) Pisahkan dan ambil bagian etil asetat, larutan ini kemudian diidentifikasi menggunakan logam Mg dan Zn. Uji menggunakan logam Zn

dilakukan dengan cara mengambil larutan ekstrak sebanyak 1 ml, diuapkan hingga kering dan dilarutkan dengan 1 ml metanol 95 % P. Serbuk seng P sebanyak 0,5 g dan 2 ml asam klorida 2 N ditambahkan pada campuran, diamkan 1 menit dan ditambahkan 10 tetes asam klorida pekat P, jika dalam waktu 2–5 menit terjadi warna merah intensif menunjukkan adanya flavonoid (glikosida-3-flavonol). Identifikasi dengan logam Mg dilakukan dengan cara mengambil 1 ml larutan ekstrak, diuapkan hingga kering dan dilarutkan dengan 1 ml etanol 95 %. 0,1 g serbuk magnesium P dan 10 tetes asam klorida pekat P ditambahkan pada larutan. Jika terjadi warna merah hingga merah ungu, menunjukkan adanya flavonoid. Jika terjadi warna kuning hingga menunjukkan adanya flavon, kalkon dan auron (23).

c. Identifikasi Saponin

Dalam tabung reaksi dimasukkan 0,5 g serbuk simplisia, ditambahkan 10 ml air panas, dinginkan dan kemudian kocok kuat-kuat selama 10 detik. Jika terdapat senyawa saponin, akan terbentuk buih yang mantap setinggi 1 cm sampai 10 cm selama tidak kurang dari 10 menit. Pada penambahan 1 tetes asam klorida 2 N, buih tidak hilang (23).

d. Identifikasi Glikosida

Serbuk simplisia ditimbang sebanyak 3 g kemudian diekstraksi dengan 30 ml campuran 7 bagian etanol (95%) dan 3 bagian volume air pada alat pendingin alir balik selama 10 menit. Larutan ini disebut larutan percobaan. Untuk mengidentifikasi adanya glikosida secara umum, dapat digunakan pereaksi Molisch. Larutan percobaan ditambahkan beberapa tetes

pereaksi molisch, kemudian melalui dinding tabung, teteskan 20 tetes asam sulfat pekat. Jika terdapat glikosida maka akan terbentuk cincin.

Identifikasi glikosida jantung dilakukan dengan cara mengambil larutan percobaan, kemudian diuapkan di atas penangas air. Sisanya dilarutkan dalam metanol, tambahkan baljet LP. Jika terdapat glikosida dan aglikon kardenolida akan terjadi warna jingga setelah beberapa menit (23).

e. Identifikasi steroid dan triterpenoid

Untuk mengidentifikasi senyawa steroid atau triterpenoid maka dilakukan reaksi *Liebermann-Burchard*. Reaksi ini dilakukan dengan cara mengekstraksi simplisia dengan eter kemudian tambahkan 0,5 ml asam asetat anhidrat P. Setelah itu tambahkan 4 tetes asam sulfat P. Jika setelah penambahan asam sulfat terjadi warna biru atau hijau, maka menunjukkan adanya steroid atau triterpenoid (24).

f. Identifikasi Tanin

Untuk mengetahui adanya tanin, ekstraksi 500 mg serbuk simplisia dengan aquades atau metanol menggunakan pendingin balik selama 30 menit kemudian saring melalui kertas saring. Filtrat dimasukkan ke dalam tiga buah tabung reaksi. Ke dalam tabung reaksi pertama ditambahkan larutan NaCl 1%. Ke dalam tabung reaksi kedua ditambahkan larutan larutan gelatin 1% dan ke dalam tabung reaksi ketiga ditambahkan pereaksi gelatin-NaCl. Ekstrak mengandung tanin jika terbentuk endapan pada ketiga tabung. Uji ini dapat memberikan hasil positif palsu sehingga perlu dilakukan konfirmasi

dengan menambahkan larutan FeCl_3 1%. Hasil positif mengandung tanin jika terlihat warna biru atau warna hijau kehitaman dan terbentuk endapan (24).

4. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak

Uji aktivitas antioksidan tanaman *Ruellia coerulea* Morong, dilakukan menggunakan metode DPPH (1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil). Pada tahap awal dilakukan uji pendahuluan terhadap setiap ekstrak. Masing-masing ekstrak dilarutkan dalam metanol dengan konsentrasi 5 mg/ml. Sebanyak 5 μl dari masing-masing ekstrak ditotolkan pada lempeng silika gel 60 F 254 dengan menggunakan pipa kapiler. Selanjutnya lempeng silika disemprot dengan 0.4 mM DPPH dalam metanol. Lempeng dibiarkan beberapa menit kemudian amati bercak yang timbul pada lempeng. Bercak berwarna kuning atau putih dengan latar belakang ungu menunjukkan adanya komponen aktif yang menghambat radikal bebas DPPH (25).

Ekstrak yang menunjukkan hasil positif pada uji pendahuluan ini ditentukan aktivitas antioksidannya. Ekstrak dilarutkan dalam metanol hingga diperoleh konsentrasi 1000 ppm, larutan ini selanjutnya digunakan sebagai larutan stok. Dari larutan stok tersebut diencerkan dengan metanol hingga diperoleh konsentrasi 100, 200, 400, 500, 600 dan 1000 ppm. Masing-masing konsentrasi diambil 1,0 ml lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 1,0 ml DPPH 0,4 mM dalam metanol. Volume larutan dicukupkan dengan metanol hingga 5,0 ml, dikocok hingga homogen dan

diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit, larutan diukur serapannya pada panjang gelombang 517 nm. Larutan blanko dibuat dengan cara 1,0 ml larutan DPPH 0,4 mM dipipet ke dalam tabung reaksi dan volumenya dicukupkan hingga 5 ml (26). Sebagai kontrol positif dan pembanding digunakan kuersetin.

Data yang diperoleh dianalisis dengan cara menghitung persen aktivitas peredaman radikal. Persentase peredaman radikal dihitung dengan menggunakan rumus (27):

$$\% \text{ Peredaman} = \frac{(\text{Abs blanko} - (\text{Abs sampel} - \text{Abs sampel blanko})) \times 100 \%}{\text{Abs. Blanko}}$$

Abs blanko = Absorpsi DPPH ditambah pelarut

Abs sampel = Absorpsi ekstrak yang telah direaksikan dengan DPPH

Abs sampel blanko = Absorpsi ekstrak ditambah pelarut

Dari persentase peredaman yang diperoleh, data tersebut diolah menggunakan analisis regresi dengan nilai konsentrasi sebagai x dan persentase peredaman radikal sebagai y sehingga diperoleh persamaan garis $y = a + bx$. Selanjutnya ditentukan konsentrasi IC_{50} . Semakin kecil nilai IC_{50} maka semakin besar aktivitas antioksidan.

5. Pemeriksaan Kandungan Kimia Ekstrak

Seluruh ekstrak hasil maserasi diidentifikasi menggunakan berbagai pereaksi kimia yang sesuai.

6. Pemisahan dan Pemurnian

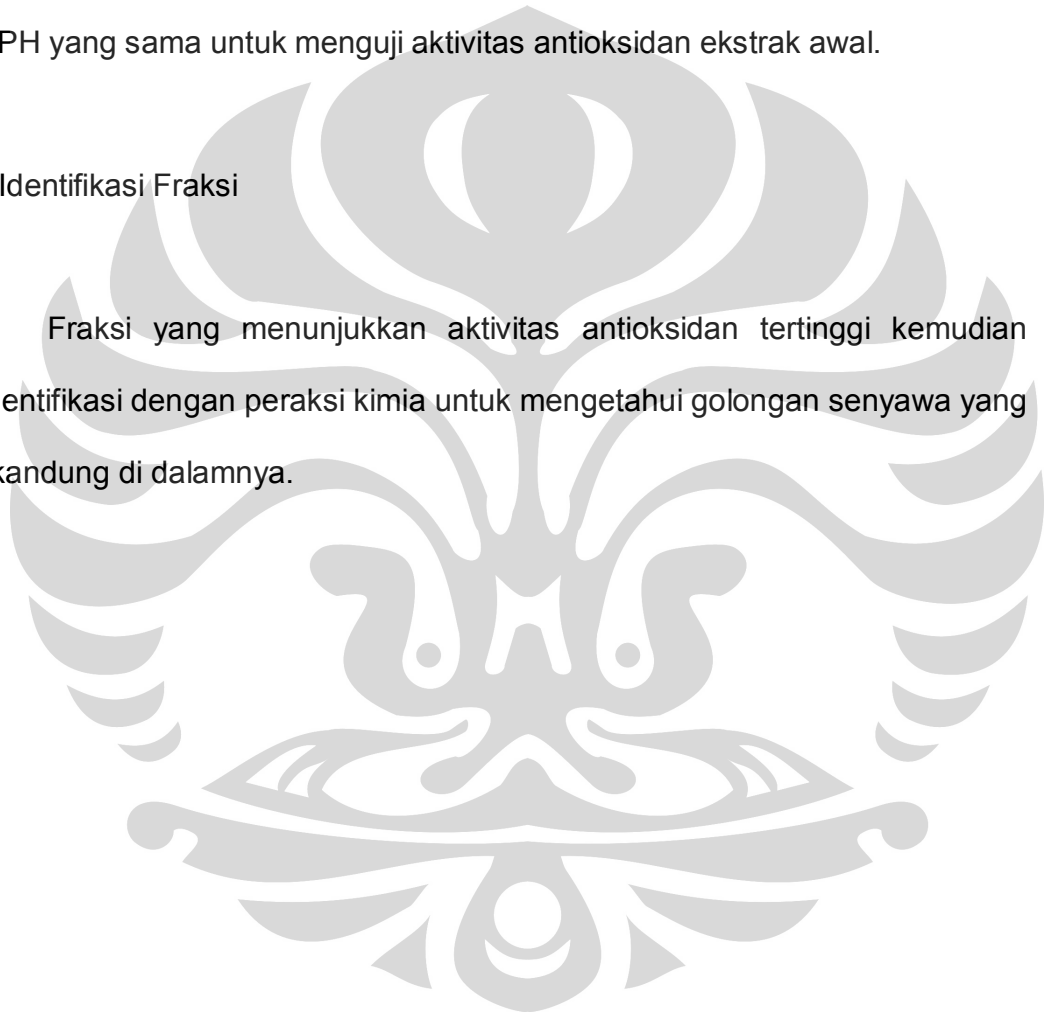
Ekstrak yang menunjukkan aktivitas antioksidan terbesar berdasarkan uji DPPH selanjutnya dipisahkan secara kromatografi kolom. Untuk mengetahui eluen yang menghasilkan pemisahan yang baik, diperiksa terlebih dahulu secara kromatografi lapis tipis. Pada pengerjaan kromatografi kolom, ekstrak terlebih dahulu dilarutkan dengan sedikit pelarut yang sesuai kemudian ditambahkan sedikit silika gel hingga diperoleh serbuk kering yang homogen. Pada Kromatografi kolom digunakan silika gel 60 H sebagai fase diam. Ekstrak ini dielusi menggunakan eluen campuran yaitu n-heksan–etil asetat dan etil asetat–metanol dengan kepolaran yang semakin meningkat (perbandingan 100:0 hingga 0:100). Masing-masing fraksi yang diperoleh ditampung dan selanjutnya diperiksa dengan metode kromatografi lapis tipis (KLT) menggunakan eluen campuran n-heksan–etil asetat dan etil asetat-metanol. Fraksi yang mempunyai bercak sama digabung dan dipekatkan. Bila hasil penguapan ekstrak etil asetat diperoleh dalam bentuk kristal, maka pemurnian dapat dilakukan dengan cara rekristalisasi.

7. Uji Aktivitas Antioksidan terhadap fraksi yang diperoleh

Setiap fraksi yang diperoleh kemudian dibandingkan aktivitas antioksidan yang dimiliki. Aktivitas antioksidan diukur menggunakan metode DPPH yang sama untuk menguji aktivitas antioksidan ekstrak awal.

8. Identifikasi Fraksi

Fraksi yang menunjukkan aktivitas antioksidan tertinggi kemudian diidentifikasi dengan peraksi kimia untuk mengetahui golongan senyawa yang terkandung di dalamnya.



BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. HASIL

1. Persentase daun *Ruellia coerulea* Morong kering terhadap daun *Ruellia coerulea* Morong segar

Persentase simplisia kering dibandingkan dengan daun segar yang digunakan pada penelitian ini adalah 18,15 % . Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Tabel I.

2. Rendemen

Rendemen ekstrak n-heksan diperoleh sebesar 2,143 %. Maserasi dengan pelarut etil asetat menghasilkan rendemen sebesar 2,714%.

Sedangkan maserasi dengan metanol menghasilkan rendemen ekstrak 21,714%. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 2.

3. Identifikasi Kandungan Kimia Simplisia

Hasil identifikasi terhadap serbuk simplisia menunjukkan bahwa dalam simplisia mengandung alkaloid, tanin, senyawa glikosida dan senyawa steroid/triterpenoid. Hasilnya dapat dilihat pada Tabel 3.

4. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak

Uji pendahuluan aktivitas antioksidan setiap ekstrak menunjukkan ekstrak etil asetat memiliki daya peredaman radikal yang paling besar. Hasil uji pendahuluan dapat dilihat pada Gambar 5. Selanjutnya pengujian aktivitas antioksidan secara kuantitatif terhadap ketiga ekstrak ini menunjukkan hasil yang sama yaitu ekstrak etil asetat memberikan penghambatan radikal terbesar. Perbandingan percobaan ketiga ekstrak tersebut dapat dilihat pada Tabel 4. Sebagai pembanding positif dilakukan uji antioksidan terhadap kuersetin standar. Hasil pengujian aktivitas antioksidan kuersetin dapat dilihat pada Tabel 5.

5. Hasil Identifikasi Golongan senyawa Kimia Ekstrak

Ekstrak heksan mengandung steroid/triterpenoid, sedangkan ekstrak etil asetat mengandung alkaloid, tanin, glikosida dan steroid/triterpenoid.

Pemeriksaan terhadap ekstrak metanol menunjukkan adanya senyawa alkaloid, saponin, dan tanin. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 3.

6. Hasil Pemisahan dan Pemurnian

Setelah dilakukan fraksinasi terhadap ekstrak etil asetat menggunakan kromatografi kolom dipercepat, maka diperoleh hasil 54 fraksi yang berhasil dipisahkan. Terhadap 54 fraksi ini kemudian dilakukan elusi pada kromatografi lapis tipis silika gel F254 menggunakan eluen heksan:etil asetat (75:25) untuk mengetahui adanya fraksi yang sama. Fraksi yang menunjukkan pola kromatogram dan Rf yang sama digabung menjadi satu. Dari penggabungan tersebut diperoleh 12 fraksi (fraksi A-fraksi L).

7. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi

Uji pendahuluan terhadap terhadap fraksi A–fraksi L menunjukkan hasil fraksi D hingga fraksi K memiliki aktivitas antioksidan yang cukup baik ditandai dengan adanya bercak kuning setelah disemprot DPPH dengan latar belakang ungu. Hasil uji pendahuluan antioksidan dapat dilihat pada Gambar 6. Selanjutnya dilakukan uji antioksidan kuantitatif terhadap fraksi D–fraksi K. Dari hasil pengujian tersebut diperoleh bahwa aktivitas tertinggi ditunjukkan fraksi J yaitu 205,759 ppm. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 6.

8. Hasil Identifikasi Fraksi

Fraksi J selanjutnya diidentifikasi dengan berbagai reaksi kimia. Hasil identifikasi menunjukkan fraksi J mengandung senyawa fenol, glikosida, dan steroid/triterpenoid. Hasil uji aktivitas dapat dilihat pada Tabel 3.

B. PEMBAHASAN

Bagian Tanaman yang digunakan pada penelitian ini adalah daun dari *Ruellia coerulea* Morong yang diperoleh di lingkungan UI Depok dan telah dideterminasi di Herbarium Bogoriense, LIPI Cibinong. Hasil determinasi dapat dilihat pada Lampiran 1. Determinasi ini dilakukan untuk mengetahui jenis dan keaslian tanaman.

Simplisia yang digunakan pada penelitian ini adalah daun *Ruellia coerulea* Morong dari ruas kedua hingga keenam. Penelitian diawali dengan pengeringan daun simplisia. Pengeringan dilakukan tidak pada cahaya matahari langsung. Hal ini dilakukan agar senyawa yang dapat rusak akibat pemanasan tinggi tetap terlindungi. Proses pengeringan ini perlu dilakukan untuk mengurangi kadar air pada simplisia sehingga simplisia tidak cepat rusak dan busuk. Setelah kering, simplisia diperkecil menggunakan blender. Pengecilan ukuran ini bertujuan untuk memudahkan pelarut mengekstraksi senyawa kimia dari simplisia. Simplisia diayak menggunakan ayakan

50 mesh agar derajat kehalusan simplisia seragam. Simplisia tidak boleh terlalu halus karena akan menyebabkan pelarut sulit masuk pada bagian antara serbuk.

Ekstraksi dilakukan dengan menggunakan metode maserasi dengan pelarut yang kepolarannya meningkat. Metode maserasi dipilih untuk menghindari kerusakan kandungan kimia tanaman yang tidak tahan panas. Maserasi diulang beberapa kali agar terjadi proses ekstraksi yang optimal dan seluruh senyawa dapat terekstraksi. Pada saat ekstraksi digunakan pelarut yang kepolarannya semakin meningkat yaitu n-heksan, etil asetat, dan metanol. Pelarut tersebut dipilih agar dapat memisahkan senyawa kimia berdasarkan kepolarannya sehingga akan memudahkan langkah pengujian selanjutnya. Pelarut n-heksan digunakan untuk menarik senyawa-senyawa non polar seperti triterpenoid, steroid, pigmen dan lemak. Pada pelarut etil asetat, senyawa-senyawa semi polar seperti klorofil, aglikon flavonoid, atau asam fenolat bebas seharusnya dapat terekstraksi. Metanol yang bersifat polar digunakan untuk menarik alkaloid, kumarin, heterosida flavonoid, dan senyawa polar lainnya.

Filtrat yang diperoleh dari proses maserasi kemudian dipekatkan menggunakan alat *rotary evaporator*. Pemekatan menggunakan evaporator dilakukan hingga ekstrak menjadi kental dan masih dapat dituang dari wadah. Pemekatan dilanjutkan di atas penangas air agar diperoleh ekstrak dengan kekentalan yang maksimal. Proses pemekatan dilakukan pada suhu

di bawah 50°C untuk menghindari rusaknya senyawa yang tidak tahan panas.

Setelah dipekatkan maka diperoleh ekstrak kental n-heksan, etil asetat, dan metanol. Simplisia dan ketiga ekstrak diidentifikasi dengan berbagai pereaksi kimia. Identifikasi adanya alkaloid dilakukan dengan pereaksi Mayer, Dragendorff, dan Bouchardat. Saat penambahan pereaksi Mayer dan Dragendorff pada simplisia atau ekstrak yang telah diasamkan, akan terbentuk senyawa adisi yang tidak larut, yang terlihat sebagai endapan. Pereaksi Bouchardat dengan alkaloid akan membentuk senyawa kompleks bebas yang terlihat sebagai endapan coklat kehitaman (23).

Keberadaan senyawa tanin diuji menggunakan pereaksi FeCl_3 , gelatin, dan Pb(II) asetat. Simplisia terlebih dahulu diekstraksi menggunakan metanol. Setelah ditambahkan FeCl_3 warna larutan menjadi hijau kehitaman yang menunjukkan adanya senyawa fenol. Larutan yang sama ditambahkan gelatin dan Pb(II) asetat, terlihat adanya endapan. Berdasarkan pengujian tersebut disimpulkan adanya tanin pada simplisia dan ekstrak. Untuk uji flavonoid, perlu dilakukan pemisahan senyawa flavonoid dari aglikon dengan cara menghidrolisis simplisia dan ekstrak menggunakan HCl 2N. Akibat terpisahnya aglikon, senyawa flavonoid menjadi lebih reaktif. Senyawa flavonoid dipisahkan menggunakan etil asetat. Pengujian flavonoid dilakukan dengan menambahkan logam Mg atau Zn dan HCl pekat. Logam ini akan bereaksi membentuk gelembung-gelembung H_2 dan flavonoid akan membentuk garam fenolat yang akan menyebabkan timbulnya warna pada

larutan (28). Setelah ditambahkan logam, simplisia dan ekstrak memberikan warna hijau. Pada flavonoid positif umumnya akan timbul warna merah pada reaksi menggunakan logam Zn dan warna merah jingga atau kuning jingga setelah ditambahkan logam Mg. Berdasarkan perbedaan warna itu, disimpulkan tidak adanya flavonoid. Bagian yang tidak tertarik etil asetat, diuji adanya glikosida menggunakan pereaksi Molisch. Pada simplisia dan ekstrak terbentuk cincin ungu sehingga disimpulkan mengandung glikosida. Simplisia yang telah diekstraksi menggunakan pelarut semi polar atau polar dan ekstrak ditambahkan pereaksi Liebermann-Bouchard untuk mengidentifikasi senyawa steroid/triterpenoid. Terbentuk warna hijau pada ekstrak dan simplisia sehingga disimpulkan adanya senyawa steroid/triterpenoid.

Setiap ekstrak kental yang diperoleh kemudian dilakukan pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH. Metode uji DPPH dipilih karena mudah dilakukan dan dapat menunjukkan keterulangan yang baik karena proses reaksi yang tidak rumit. Langkah pertama pengujian aktivitas antioksidan dilakukan uji pendahuluan dengan cara menotolkan larutan sampel dari tiap ekstrak pada sebidang lempeng silika gel kemudian disemprot dengan larutan DPPH 0,4 mM. Uji pendahuluan ini dilakukan untuk memperkirakan ekstrak mana yang memiliki aktivitas antioksidan terbesar. Hasil uji pendahuluan menunjukkan ekstrak etil asetat memiliki aktivitas antioksidan terbesar. Hal ini terlihat pada besarnya daerah berwarna kuning dengan latar belakang ungu. Warna kuning ini timbul karena elektron pada molekul DPPH telah berikatan dengan antioksidan sehingga terjadi

perubahan warna ungu menjadi kuning. Reaksi yang terjadi antara molekul DPPH dengan zat antioksidan dapat dilihat pada Gambar 7. Hasil uji ini diperkuat dengan uji DPPH secara kuantitatif yang dilakukan terhadap setiap ekstrak. Pengujian dilakukan terhadap 6 titik konsentrasi untuk meningkatkan keakuratan pengujian. Berdasarkan hasil pengujian tersebut, ekstrak etil asetat menunjukkan aktivitas tertinggi dengan IC_{50} 203,401 ppm. Berdasarkan kedua data pengujian tersebut maka disimpulkan bahwa ekstrak etil asetat memiliki aktivitas antioksidan terbesar.

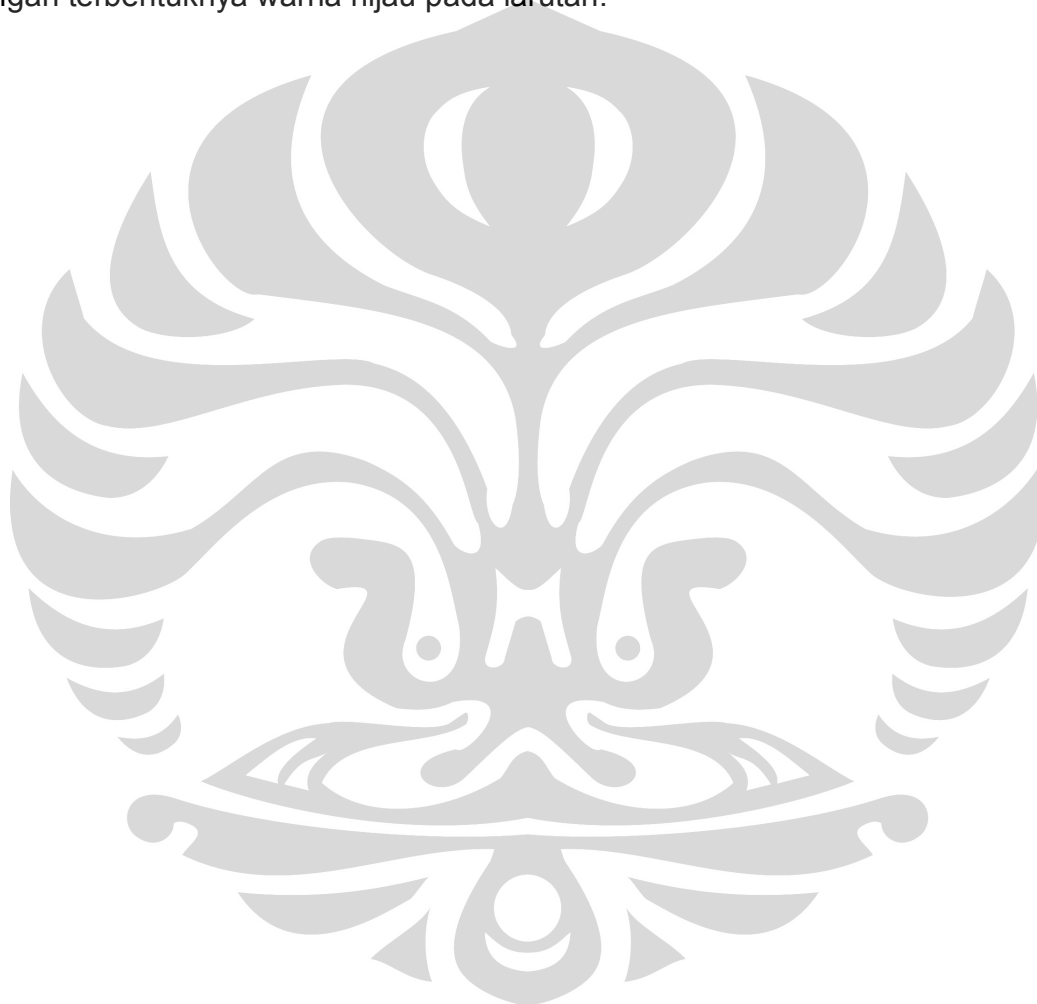
Setelah mengetahui ekstrak yang memiliki aktivitas antioksidan terbesar dilakukan pemisahan ekstrak etil asetat menggunakan kromatografi kolom dipercepat. Fraksinasi dilakukan terhadap 10 g ekstrak etil asetat menggunakan eluen yang tingkat kepolarannya semakin meningkat yakni n-heksan-etil asetat dan etil asetat-metanol. Dari hasil fraksinasi ini diperoleh 54 fraksi yang kemudian di KLT dengan menggunakan eluen heksan-etil asetat (75:25). Fraksinasi yang menunjukkan kemiripan bercak yang sama digabungkan. Bercak yang timbul pada lempeng diamati baik secara langsung maupun di bawah sinar ultraviolet dengan panjang gelombang 254 nm dan 366 nm. Lempeng KLT juga diamati setelah disemprot menggunakan pereaksi H_2SO_4 10% dalam metanol yang kemudian dipanaskan di atas plat panas. Penggabungan fraksi yang mempunyai bercak yang sama menghasilkan 12 fraksi. Fraksi 1-5 digabung menjadi fraksi A; fraksi 6 menjadi fraksi B; fraksi 7-9 digabung menjadi fraksi C; fraksi 10-15 digabung menjadi fraksi D; fraksi 16-17 digabung menjadi

fraksi E; fraksi 18-23 digabung menjadi fraksi F; fraksi 24-27 digabung menjadi fraksi G; fraksi 28-33 digabung menjadi fraksi H; fraksi 34-39 digabung menjadi fraksi I; fraksi 40-45 digabung menjadi fraksi J; fraksi 46-51 digabung menjadi fraksi K; dan fraksi 52-54 digabung menjadi fraksi L.

Kedua belas fraksi tersebut dilakukan uji pendahuluan aktivitas antioksidan dengan DPPH. Dari hasil uji ini terlihat bahwa fraksi D hingga fraksi K menunjukkan aktivitas antioksidan. Melalui uji pendahuluan ini, fraksi yang memiliki aktivitas antioksidan terbesar tidak dapat disimpulkan karena peredaman radikal bebas yang ditunjukkan dengan pinggir fraksi yang ditotolkan berwarna kuning dengan latar ungu hanya kecil dan tidak terlihat jelas perbedaan antar fraksi. Fraksi E tidak dapat dilakukan pengujian aktivitas antioksidan karena jumlah fraksi yang terlampau sedikit. Fraksi D-fraksi K diukur aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH. Setelah pengukuran tersebut, fraksi J menunjukkan aktivitas antioksidan terbaik dengan nilai IC_{50} 205,759 ppm.

Fraksi J diidentifikasi menggunakan berbagai pereaksi kimia. Pada pengujian alkaloid, fraksi J ditambahkan larutan HCL 2 N kemudian ditambahkan pereaksi Mayer, Bouchardat dan Dragendorff. Pada penambahan pereaksi Mayer tidak terbentuk endapan putih kekuningan. Pada penambahan pereaksi Dragendorff dan bouchardat, tidak terbentuk endapan sama sekali. Berdasarkan hasil ketiga reaksi ini, diambil kesimpulan bahwa fraksi aktif tidak mengandung alkaloid. Fraksi aktif menunjukkan adanya senyawa fenol berdasarkan penambahan $FeCl_3$ yang menunjukkan

warna hijau kecoklatan. Pada pengujian glikosida, fraksi J yang dihidrolisis terlebih dahulu dengan HCL 2N menunjukkan adanya cincin pada saat dilakukan pereaksi Molish. Pengujian triterpenoid/steroid menggunakan pereaksi *Liebermann-Bourchard* menunjukkan hasil positif pada fraksi J dengan terbentuknya warna hijau pada larutan.



BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian terhadap ekstrak daun *Ruellia coerulea* Morong, dapat disimpulkan :

1. Ekstrak Etil asetat memiliki aktivitas antioksidan paling baik dibandingkan dengan ekstrak heksan dan metanol dengan nilai IC_{50} 203,401 ppm.
2. Hasil pemisahan ekstrak etil asetat, maka diperoleh fraksi aktif yang mengandung senyawa fenol, steroid atau triterpenoid dan glikosida

B. SARAN

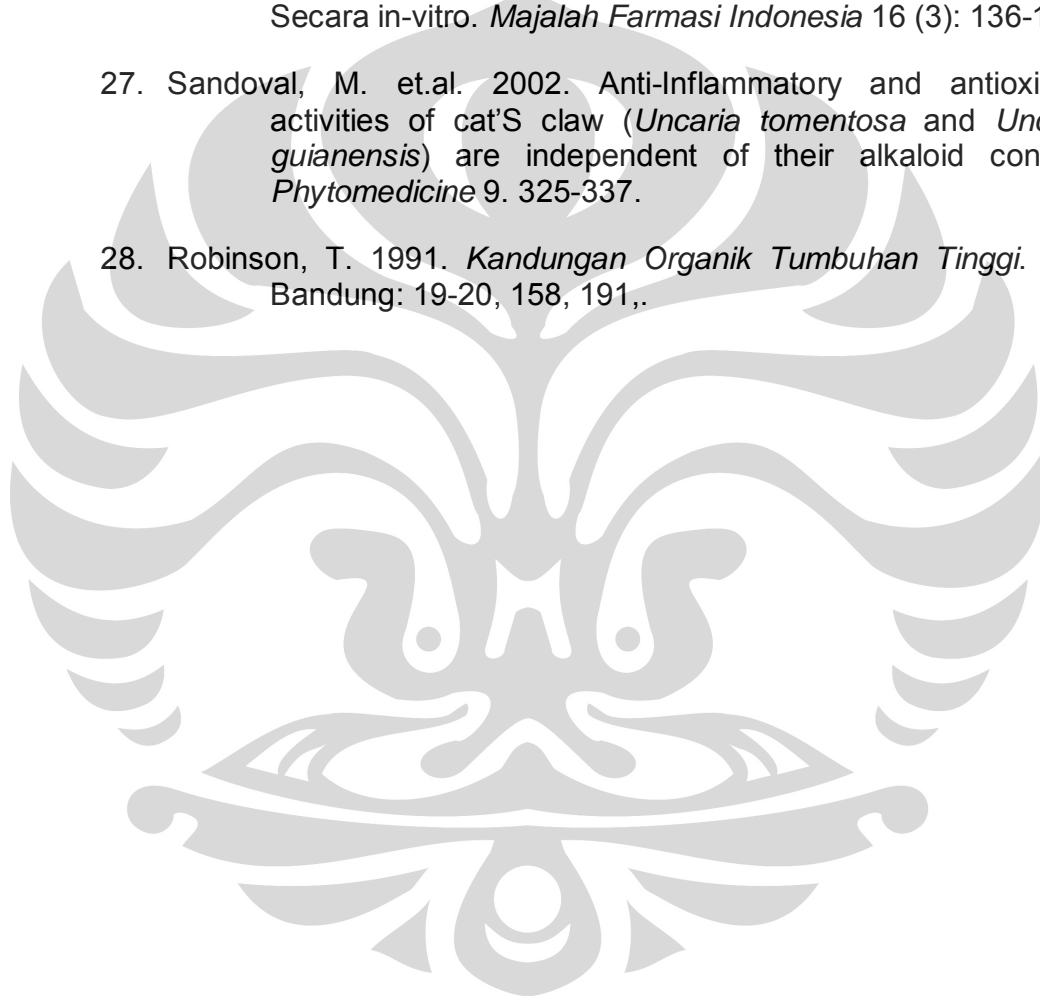
Sebaiknya dilakukan pemisahan dan pemurnian lebih lanjut terhadap fraksi aktif untuk memperoleh senyawa murni yang aktif.

DAFTAR ACUAN

1. Dalimartha, S. 2006. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*. Puspa Swara. Jakarta: 44,49,103.
2. Akhtar, M.F., S. Rashid, M. Ahmad & K. Usmanhani. Cardiovascular Evaluation of *Ruellia Patula* and *Ruellia Brittoniana*. *Journal of Islamic Academy of Sciences*. 5(1). 1992: 67-71.
3. Nugroho, Y.A. 2003. *Ruellia tuberosa* L. *Dalam*: Lemmens, R.H.M.J dan Bunyapraphatsara, N. (eds). 2003. *Plant Resources of South-East Asia No.12(3)*. Prosea Foundation. Bogor, Indonesia: 170, 325, 352-353.
4. Lin, CF, YL Huang, LY Cheng, SJ Sheu, CC Chen.2006. Bioactive flavonoids from *Ruellia tuberosa*. *Journal Chinese Medicine* 17(3): 103-109.
5. Chen, Fu-An, AB Wu, P. Shieh, DH Kuo & CY Hsieh. 2006. Evaluation of the Antioxidant Activity of *Ruellia tuberosa*. *Food Chemistry* 94(1): 14-18.
6. Jr, Jones, Samuel B. and A.E. Luchsinger. 1987. *Plant Systematics 2nd ed*. Mc Graw Hill Book Co. Singapura
7. George, A.S. et al. 1993. Flora of Australia volume 50. *Australian Government Publishing Service*. Canberra: 380.
8. Anonim. 2004. *Flora of the carolina, Virginia, dan Georgia Working Draft*. Anonim: 68.
9. Daniel, T.F. 2004. Further Range Extensions Of Mexican Acanthaceae. *Publibotanica* (18): 1-12.
10. Neal, K. 1999. *Ruellia brittoniana*. 2 hlm. <http://www.greenbeam.com/features/plant012599.stm>, 5 Januari 2009, pk. 10.02.
11. Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan. 1995. *Farmakope Indonesia Edisi IV*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta : 7, 1002, 1005-1007.

12. Direktorat Pengawasan Obat Tradisional. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat Cetakan Pertama*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta : 9-31.
13. Wu, D. & A.I. Cederbaum, Ph.D. 2003. Alcohol, Oxidative Stress, and Free Radical Damage. *Alcohol Research and Health* 27 (4): 277 – 284.
14. Widjaja, S. 1997. Antioksidan: Pertahanan Tubuh Terhadap Efek Oksidan dan Radikal Bebas. *Majalah ilmu Fakultas Kedokteran USAKTI* 16 (1): 1660-1666.
15. Silalahi, J. 2000. Peran Antioksidan Alami pada Pencegahan Berbagai Penyakit. *Media Farmasi* 8 (1) : 2-4.
16. Kruawan, K. & K. Kangsadalampai. 2006. Antioxidant activity, phenolic compound contents and antimutagenic activity of some water extract of herbs. *Thai Journal of Pharmaceutical Science*. 30: 28-35.
17. Murray, R. K., Daryl K.G., Peter A.M., Victor W.R. 2003. *Biokimia Harper*. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta: 160.
18. Suyatno dan H. Nurul. 2006. Isolasi dan Uji Pendahuluan Antioksidan Senyawa Flavonoid dari Batang Tumbuhan *Paku Chingia sakayensis (Zeiller) Holtt.* *Jurnal Obat Bahan Alam* 5(1): 8.
19. Ketaren, S. 1986. *Pengantar Teknologi Minyak dan Lemak Pangan*. UI-Press. Jakarta: 121-124.
20. Shivaprasad, H.N., S.Mohan, M.D.Kharya. 2005. In-Vitro Models for Antioxidant Activity Evaluation: A Review. 9 hlm. <http://www.pharmainfo.net>, 26 Januari 2009, pukul 23:51.
21. Gritter, Roy J., J.M. Bobbit, dan A.E. Schwarting. 1991. *Pengantar Kromatografi*. ITB. Bandung: 4.
22. Hostettmann, M. 1986. *Cara Kromatografi Preparatif: Penggunaan pada Isolasi senyawa Alam*. ITB. Bandung: 9-10.
23. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1979. *Materia Medika Indonesia jilid V*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta: 549-553.

24. Ciulei, I. 1984. *Methodology for Analysis of Vegetables Drugs*. Chemical Industries Branch Division-Industrial Operation UNIDO. Bucharest-Rumania: 11-23.
25. Sarker, S.D., Zahid L., Alexander I.G. 2006. *Natural Products Isolation*. Humana Press Inc. New Jersey: 20-21.
26. Rohman, A. dan Sugeng Riyanto. 2005. Daya Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Kemuning (*Murraya paniculata* (L) Jack) Secara in-vitro. *Majalah Farmasi Indonesia* 16 (3): 136-140.
27. Sandoval, M. et.al. 2002. Anti-Inflammatory and antioxidant activities of cat'S claw (*Uncaria tomentosa* and *Uncaria guianensis*) are independent of their alkaloid content. *Phytomedicine* 9. 325-337.
28. Robinson, T. 1991. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. ITB. Bandung: 19-20, 158, 191,.

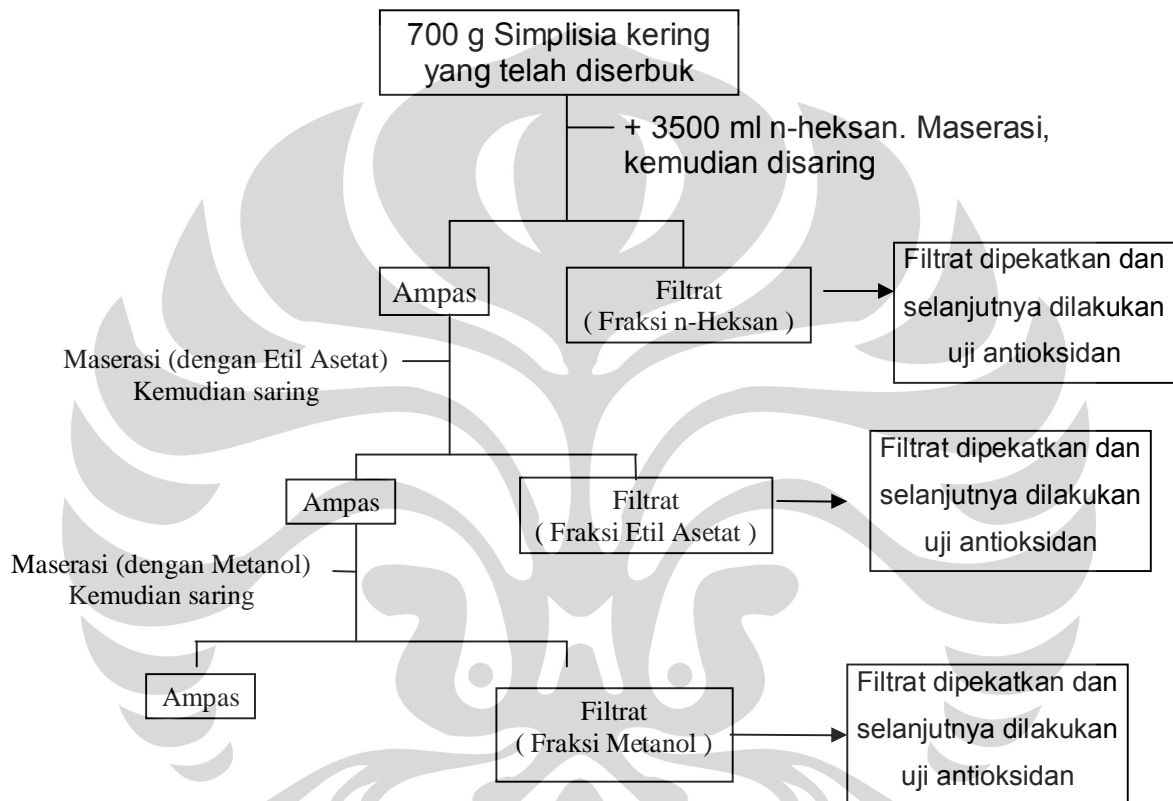




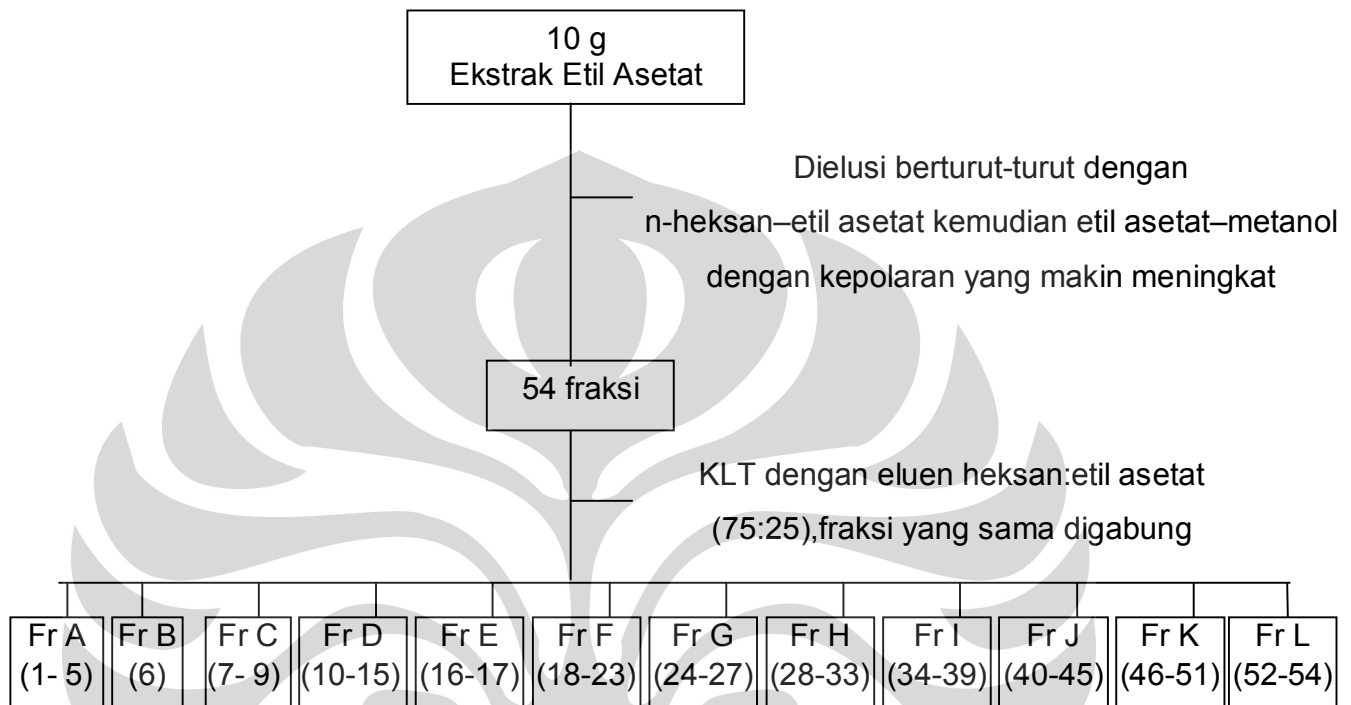
GAMBAR



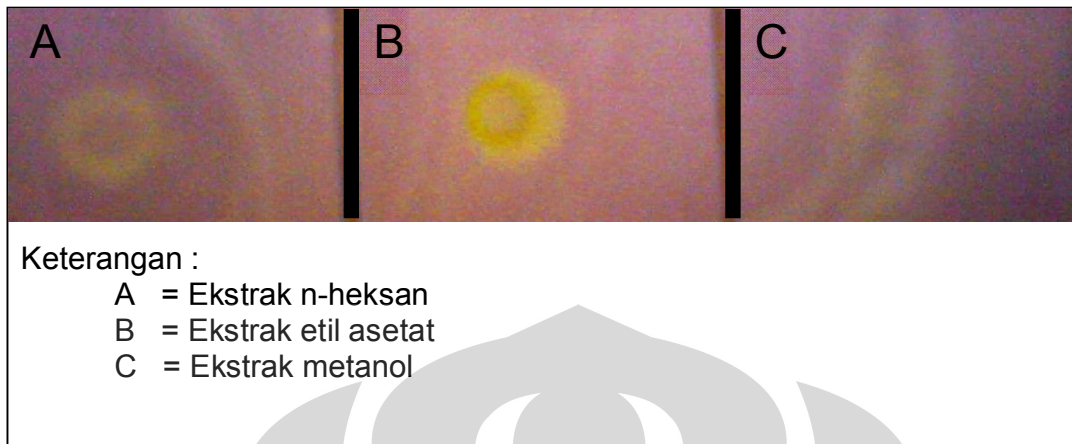
Gambar 2. Tanaman *Ruellia coerulea* Morong



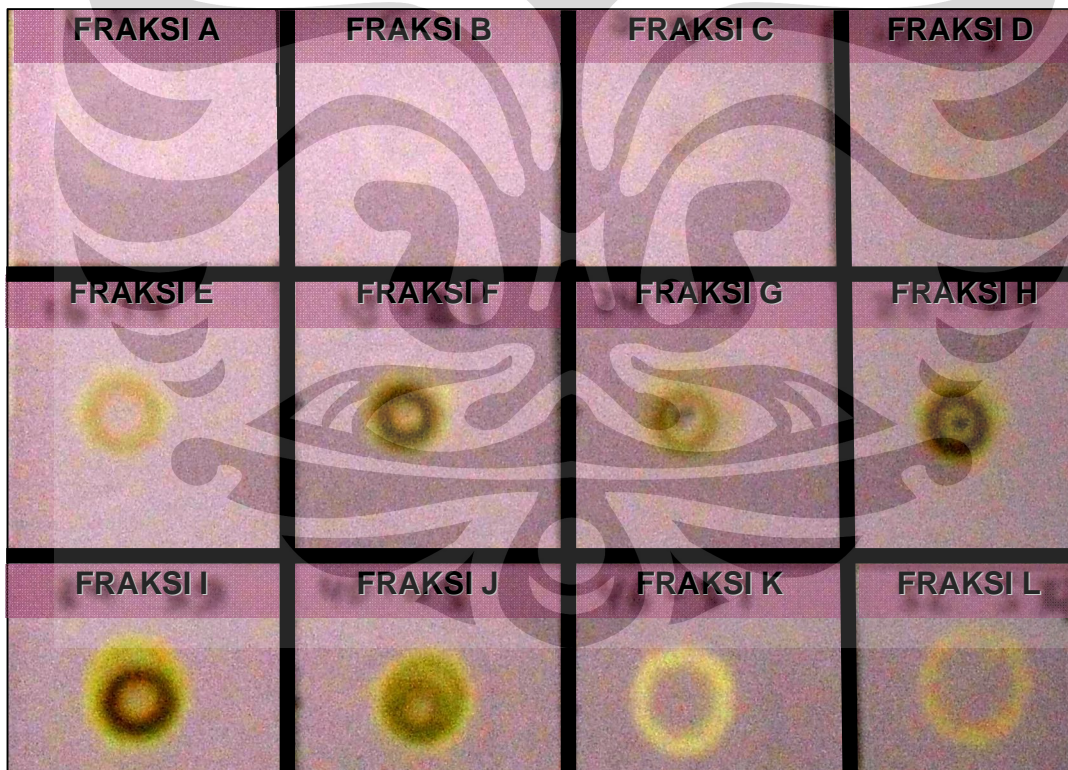
Gambar 3. Bagan ekstraksi serbuk simplisia



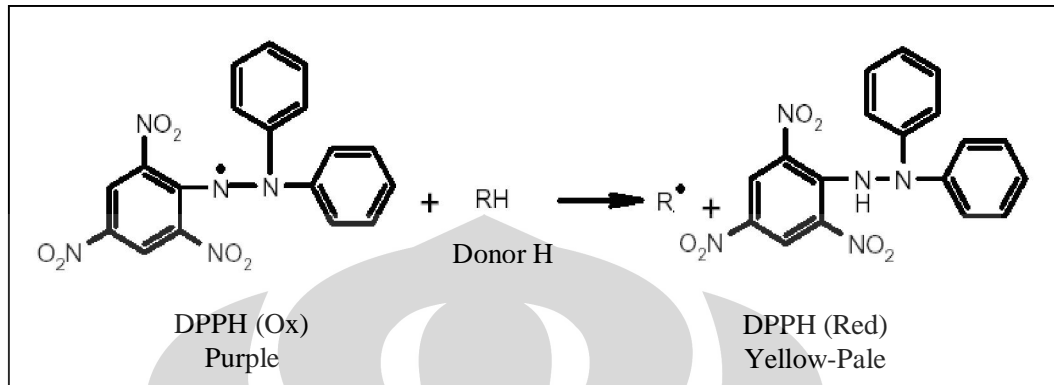
Gambar 4. Bagan kromatografi kolom ekstrak etil asetat



Gambar 5. Hasil uji pendahuluan antioksidan terhadap ekstrak



Gambar 6. Hasil uji pendahuluan aktivitas antioksidan 12 fraksi



Gambar 7. Reaksi DPPH dengan senyawa antioksidan

[Sumber: European Journal of Scientific Research 24(2) 2008: 221]



Tabel 1

Persentase daun *Ruellia coerulea* Morong kering terhadap daun *Ruellia coerulea* Morong segar

Bobot daun segar (g)	Bobot daun kering (g)	Persentase (%)
167	29	17,36
226	42	18,58
545	101	18,53
		Rata – rata = 18,15

Tabel 2

Rendemen ekstrak daun *Ruellia coerulea* Morong

no	Ekstrak	Bobot ekstrak (g)	Rendemen ekstrak (%)
1	N – heksan	15	2,143
2	Etil asetat	19	2,714
3	metanol	152	21,714

Tabel 3

Identifikasi kandungan kimia simplisia, ekstrak, dan fraksi aktif

Uji identifikasi	Serbuk simplisia	Ekstrak n-heksan	Ekstrak etil asetat	Ekstrak metanol	Fraksi Aktif
Alkaloid	+	-	+	+	-
Saponin	-	-	-	-	-
Flavonoid	-	-	-	-	-
Glikosida jantung	-	-	-	-	-
Glikosida	+	-	+	+	+
Tanin	+	-	+	+	+
Terpen / sterol	+	+	+	+	+

Tabel 4

Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Metode DPPH Terhadap Ekstrak

Ekstrak	Aktivitas Peredaman (%)	Persamaan regresi	IC ₅₀ (µg/ml)
n-heksan	6,179	$y = 7.351 + 0.065 x$	659.8
	9,010		
	9,714		
	10,751		
	21,701		
	17,130		
Etil asetat	3,900	$y = - 0.073 + 0.246 x$	203.401
	5,108		
	9,063		
	19,292		
	27,217		
	50,687		
metanol	4,109	$y = 0.510 + 0.103 x$	479.191
	5,235		
	5,104		
	10,807		
	14,010		
	21,863		

Tabel 5

Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Metode DPPH kuersetin

Konsentrasi (ppm)	Aktivitas Peredaman (%)	Persamaan regresi	IC ₅₀ (µg/ml)
0,4	12,0438		
0,8	28,7198		
1,2	46,9961	$y = 0,225 + 33,696 x$	1,4772
1,6	54,2673		
2	69,3571		

Tabel 6

Hasil Pengujian Antioksidan terhadap Fraksi D – Fraksi K

Fraksi	Persamaan regresi	IC ₅₀ (µg/ml)
Fraksi D	$y = 0,510 + 0,103 x$	479,1912607
Fraksi F	$y = 0,455 + 0,214 x$	231,21724
Fraksi G	$y = 2,811 + 0,117 x$	404,362
Fraksi H	$y = 0,682 + 0,205 x$	240,617
Fraksi I	$y = -0,882 + 0,232 x$	219,085
Fraksi J	$y = 0,638 + 0,240 x$	205,759
Fraksi K	$y = -14,909 + 0,279 x$	232,969



Lampiran 1

Hasil Determinasi daun *Ruellia coerulea* Morong



LEMBAGA ILMU PENGETAHUAN INDONESIA
(Indonesian Institute of Sciences)
PUSAT PENELITIAN BIOLOGI
(Research Center for Biology)

Jl. Raya Jakarta - Bogor Km. 46 Cibinong 16911, Indonesia P.O Box 25 Cibinong
Telp. (021) 87907636 - 87907604 Fax. 87907612

Cibinong, 10 November 2008

Nomor : ~~027~~/IPH.1.02/If.8/2008
Lampiran : -
Perihal : Hasil identifikasi/determinasi Tumbuhan

Kepada Yth.
Bpk./Ibu/Sdr(i). Kathie Angelina D.
NPM : 0305050361
Mhs. Univ. Indonesia
Depok


Dengan hormat,

Bersama ini kami sampaikan hasil identifikasi/determinasi tumbuhan yang Saudara kirimkan ke "Herbarium Bogoriense", Bidang Botani Pusat Penelitian Biologi-LIPI Bogor, adalah sebagai berikut :

No.	No. Kol.	Jenis	Suku
1	Mexican Petunia	<i>Ruellia coerulea</i> Morong	Acanthaceae

Demikian, semoga berguna bagi Saudara.

Kepala Bidang Botani
Pusat Penelitian Biologi-LIPI,


Dr. Eko Baroto Walujo, APU
NIP. 320001330

D:\Ident 2008\Kathie Angelina D..doc\JJA-ALEX

Page 1 of 1