Jurnal ENTROPi

Inovasi Penelitian, Pendidikan dan Pembelajaran Sains

Diterbitkan oleh :
Jurusan Pendidikan Kimia
Fakultas MIPA Universitas Negeri Gorontalo

VOLUME I | NOMOR 1 | HALAMAN 1 - 120 | FEBRUARI 2017 | ISSN 1907-1965

JE

ISSN 1907 -1965

Jurnal Entropi

Inovasi Penelitian Pendidikan dan Pembelajaran Sains

Volume 1, Nomor 1, Februari 2017

DAFTAR ISI

halaman

1 Sintesis Nanopartikel Besi (III) Oksida (Fe_2O_3) dengan Menggunakan *Salt-Assisted Combustion Method* (SACM) 1 - 6

Abd. Wahidin Nuayi
Jurusan Fisika, Fakultas Matematika Dan IPA, Universitas Negeri Gorontalo

2 Penggunaan Teknik *Talking Chips* pada Model Kooperatif Hasil Belajar dalam Pembelajaran Tata Nama Senyawa dan Persamaan Reaksi Kimia di SMAN 2 Pariaman 7 - 14

Bayharti, Bahrizal, Rahmi Fitriani
Jurusan Kimia, FMIPA Universitas Negeri Padang

3 Pengembangan Perangkat Pembelajaran Menggunakan Media Animasi pada Materi Gelombang di SMP Negeri 9 Gorontalo 15 - 23

Arlian Yahudu, Yoseph Paramata, Citron S Payu
Jurusan Fisika, Fakultas Matematika Dan IPA, Universitas Negeri Gorontalo

4 Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Aktif Terhadap Mortalitas Kutu Beras dari Ekstrak Etil Asetat Rimpang Jeringau (*Acorus calammus* L.) 25 - 32

Eka Donna Fauziah, Nurhayati Bialangi, Weny J.A. Musa
Jurusan Kimia, Fakultas Matematikan dan IPA, Universitas Negeri Gorontalo

5 Karakteristik Organoleptik Stik Alga Laut *Kappaphycus alvarezii* Fortifikasi Tepung Udang Rebon (*Mysis* sp.) Selama Penyimpanan Dalam Kemasan Polipropilen 33 - 38

Shafira Dwiana Sari, Faiza A. Dali , Rita Marsuci Harmain
Jurusan Teknologi Hasil Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Negeri Gorontalo

6 Upaya Meningkatkan Kemampuan dalam Menyelesaikan Soal-Soal Hidrolisis Garam pada Siswa SMA Negeri 1 Telaga Kelas XI dengan Menggunakan Metode Problem Solving Disertai LKS 39 - 46

Leni Nusi, Mardjan Paputungan, Deasy N. Botutihe
Jurusan Kimia, Fakultas Matematikan dan IPA, Universitas Negeri Gorontalo

7 Analisis Kemampuan Pemahaman Siswa pada Konsep Larutan Penyangga Menggunakan *Three Tier Multiple Choice Tes* 47 - 53

M. Junaidi Maksum, Mangara Sihaloho, Akram La kilo
Jurusan Kimia, Fakultas Matematikan dan IPA, Universitas Negeri Gorontalo

8 Optimasi Waktu Pengadukan dan Volume KOH Sabun Cair Berbahan Dasar Minyak Jelantah 55 - 60

Siti Aulia Bidilah, Opir Rumape, Erni Mohamad
Jurusan Kimia, Fakultas Matematikan dan IPA, Universitas Negeri Gorontalo

9 Hubungan antara Motivasi Berprestasi dengan Hasil Belajar Siswa pada Mata Pelajaran IPA Di SDN 8 Tilongkabila Kabupaten Bone Bolango 61 - 66

Gamar Abdullah, Siti Qomaria
Program Studi S1 PGSD FIA Universitas Negeri Gorontalo

10 Isolasi dan Uji Aktivitas Antioksidan Senyawa Flavonoid dari Daun Miana (*Coleus Scutelleroides* Benth.) 67 - 74

Muhamad Rumdhan Podungge, Yuszda K. Salimi, Suleman Duengo
Jurusan Kimia, Fakultas Matematikan dan IPA, Universitas Negeri Gorontalo

11 Kemampuan Pemahaman Konseptual dan Algoritmik Siswa dalam Menyelesaikan Soal-Soal Reaksi Redoks 75 - 80

Syarifah Pore, Lukman A.R Laliyo, Netty Ino Ischak
Jurusan Kimia, Fakultas Matematikan dan IPA, Universitas Negeri Gorontalo

12 Potensi Tanaman Kangkung Air (*Ipomoea Aquatica*) Sebagai Bioabsorpsi Logam Pb dan Cu 81 - 86

Lusiani La Tiro, Ishak Isa, Hendri Iyabu
Jurusan Kimia, Fakultas Matematikan dan IPA, Universitas Negeri Gorontalo

13 Upaya Peningkatan Hasil Belajar dengan Metode *Constructive Controversy* pada Materi Asam Basa 87 - 96

Aprilia Luawo, Astin Lukum, Hendri Iyabu
Jurusan Kimia, Fakultas Matematikan dan IPA, Universitas Negeri Gorontalo

14 *Cost-Effectiveness Analysis* Terapi Antibiotik Seftriakson dan Sefotaksim Pada Pasien Tifoid di RSUD Dr. M.M Dunda Limboto 97 - 103

Teti Sutriyati Tuloli
Jurusan Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan dan Keolahragaan, Universitas Negeri Gorontalo

15 Kajian Tentang Isolasi Selulosa Mikrokristalin (SM) dari Limbah Tongkol Jagung 105 - 108

Wiwin Rewini Kunusa
Jurusan Kimia, Fakultas Matematikan dan IPA, Universitas Negeri Gorontalo

16 Penggunaan Analogi dalam Pembelajaran Kesetimbangan Kimia untuk Mencegah Miskonsepsi Mahasiswa Kimia Universitas Negeri Gorontalo Semester II Tahun Akademik 2014/2015 109 - 117

Sri Ayuning Yusuf, Astin Lukum, Julhim S. Tangio
Juruasan Kimia, Fakultas Matematika Dan IPA, Universitas Negeri Gorontalo

17 Penentuan Energi Aktivasi Reaksi Esterifikasi Minyak Biji Kapuk 118 - 120

Nita Suleman
Jurusan Kimia, Fakultas Matematikan dan IPA, Universitas Negeri Gorontalo

Isolasi dan Uji Aktivitas Antioksidan Senyawa Flavonoid dari Daun Miana (*Coleus Scutelleroides* Benth.)

Muhamad Ramdhan Podungge, Yuszda K. Salimi, Suleman Duengo
Jurusan Kimia F.MIPA Universitas Negeri Gorontalo
Jl. Jenderal Sudirman No. 6 Kota Gorontao, 96128

Abstrak
Daun miana adalah daun dari tanaman miana (Coleus scutellarioides Benth.) yang diduga memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder yaitu flavonoid dan memiliki aktivitas antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi senyawa flavonoid dari daun miana dan menguji aktivitas antioksidannya. Daun miana diekstraksi dengan pelarut metanol lalu difraksinasi dengan n-heksan dan etil asetat serta diisolasi senyawa flavonoidnya. Hasil uji fitokimia positif mengandung flavonoid pada berbagai ekstrak dan isolat kecuali ekstrak n-heksan. Hasil analisis infra merah menunjukkan adanya pita serapan yang menunjukkan adanya beberapa gugus fungsi seperti OH, C=C aromatik, C-H aromatik, dan C-H alifatik yang diduga merupakan senyawa golongan flavonoid. Hasil pengukuran total fenol diperoleh sebesar 44,38 mg/g GAE (Gallic Acid Equivalent). Hasil uji aktivitas antioksidan pada isolat dengan menggunakan metode DPPH (Diphenil pikrihidrazyl) diperoleh nilai aktivitas antioksidan sebesar 98,53 mg AEAC/g (Ascorbic acid Equivalent Antioxidant Capacity) dan IC50 (Inhibitor Concentration) sebesar 324,80 ppm.

Kata Kunci: Coleus Scutellarioides Benth., aktivitas antioksidan, AEAC, IC50, dan DPPH.

PENDAHULUAN

Tumbuhan Miana (*Coleus Scutellarioides* Benth.) merupakan jenis tumbuhan apotik hidup yang banyak dimanfaatkan oleh masyarakat di Indonesia dalam pengobatan. Di Gorontalo tumbuhan ini melimpah dan banyak dijadikan obat batuk. Masyarakat Gorontalo mengenal tumbuhan ini dengan nama "Polohungo meela". Miana dijadikan obat dengan cara meminum air perasan daunnya dengan madu. Tumbuhan miana merupakan salah satu tumbuhan yang memiliki zat antioksidan.

Hardiyanti et al (2013) melaporkan bahwa ekstrak daun miana mengandung zat antioksidan yaitu antosianin dan memiliki aktivitas antioksidan sebesar 84,64%. Duengo et al (2014) juga melaporkan bahwa ekstrak daun miana memiliki aktivitas antioksidan khususnya pada ekstrak etil asetat sebesar 84,43 ± 0,92 mg AEAC/g.

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka penulis berkeinginan untuk melakukan penelitian pada daun miana yang ada di Gorontalo. Pada penelitian ini daun miana akan diekstraksi, diisolasi senyawa flavonoidnya dan diuji aktivitas antioksidannya. Ekstraksi dilakukan secara maserasi menggunakan metanol selanjutnya ekstrak yang diperoleh difraksinasi, diisolasi serta dikarakterisasi dan di uji aktifitas antioksidannya.

METODE PENELITIAN

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan selama 5 bulan di Laboratorium Kimia, Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan IPA, Universitas Negeri Gorontalo.

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *rotary evaporator*, pipet tetes, pipet mikro, corong pisah, pengaduk, tabung kolom, statif dan klem, spatula, lampu UV, seperangkat alat gelas, aluminium foil, kertas saring, corong, kaca arloji, neraca analitik, blender, pompa vakum, spektrofotometri UV-Vis, botol fial, dan seperangkat tabung reaksi.

Bahan tumbuhan (sampel) yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun miana yang tumbuh di daerah Gorontalo. Bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini adalah metanol (CH_3OH), akuades (H_2O), plat KLT, silika gel, natrium hidroksida (NaOH), Kalium Iodida (KI),

©2017 by Department of Chemistry,
Gorontalo State University - Indonesia

asam asetat (CH_3COOH) glasial, n-heksan, etil asetat, kloroform, HCl pekat, logam Magnesium (Mg), $FeCl_3$, H_2SO_4 pekat, pereaksi Meyer, DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil), asam galat, dan Vitamin C (asam askorbat).Pendekatan dan jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian eksplorasi yang dilakukan di laboratorium.

Tahapan Penelitian

Adapun tahapan dalam penelitian adalah : pengambilan dan preparasi sampel daun miana, ekstraksi dan fraksinasi, uji fitokimia flavonoid, isolasi senyawa flavonoid secara Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan kromatografi kolom, uji Kemurnian Senyawa, identifikasi senyawa, penentuan total fenol, uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH.

Maserasi dan Fraksinasi

Metode ekstraksi yang digunakan pada penelitian ini adalah ekstraksi secara maserasi yang bertujuan untuk mengekstrak komponen aktif yang terdapat di dalam sampel. Serbuk daun miana (Coleus scutellarioides Benth.) yang telah di haluskan ditimbang sebanyak 500 g dan dimaserasi dengan metanol 3 x 24 jam dan setiap 1 x 24 jam pelarut metanol diganti dengan yang baru. Maserat dievaporasi pada suhu 30-40 °C dengan bantuan alat pompa vakum.

Tahap selanjutnya, ekstrak kental metanol disuspensi dengan campuran metanol : air dengan perbandingan (1:2). Setelah itu campuran dipartisi dengan pelarut n-heksan sehingga diperoleh fraksi n-heksan dan fraksi air. Fraksi n-heksan dievaporasi pada suhu 45 °C dan menghasilkan ekstrak kental n-heksan. Fraksi air dipartisi kembali dengan pelarut etil asetat mL sehingga diperoleh fraksi etil asetat dan fraksi air. Hasil partisi dievaporasi pada suhu 45 °C sehingga diperoleh ekstrak kental etil asetat dan air, setelah itu dihitung rendemen dari masing-masing fraksi.

Uji Fitokimia Flavonoid

Ekstrak kental dari berbagai fraksi diambil sebanyak 0,1 g dilarutkan dalam 10 mL metanol kemudian dibagi ke dalam 4 tabung reaksi. Tabung pertama digunakan sebagai tabung kontrol, tabung ke dua, ke tiga dan ke empat berturut-turut ditambahkan NaOH, H_2SO_4 pekat dan serbuk Mg-HCl pekat. Warna pada masing-masing tabung dibandingkan dengan tabung kontrol, jika terjadi perubahan warna dari tabung kontrol maka positif mengandung flavonoid. Terbentuknya warna merah, kuning atau jingga menunjukan adanya flavonoid (Harborne, 1987).

Isolasi Secara Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan Kromatografi Kolom

Ekstrak etil asetat daun miana diambil sebagian dan dilarutkan dalam pelarut dan dianalisis menggunakan kromatografi lapis tipis menggunakan beberapa variasi fase gerak hingga diperoleh noda yang terpisah sempurna untuk melihat pola noda dan komposisi pelarut yang optimal. Setelah diperoleh komposisi pelarut yang optimal dengan pola noda yang terpisah sempurna, ekstrak kemudian di isolasi menggunakan kromatografi kolom. Isolasi daun miana dilakukan dengan menggunakan kromatografi kolom dengan tabung kolom sepanjang 50 cm dan diameter 2,5 cm. Fasa diam yang digunakan adalah silika gel 60 sebanyak 46 g dan tinggi 23 cm dan fase gerak n-heksan + etil asetat dengan komposisi bergradien mulai dari n-heksan 100% hingga etil asetat 100%. Mula-mula kolom diisi dengan silika gel yang telah dicampurkan dengan eluen. Setelah itu eluen ditambahkan dan perlahan-lahan dimasukkan ekstrak kental secara merata. Selanjutnya perlahan-lahan keran pada kolom dibuka untuk memulai proses elusi dan eluen yang semakin berkurang ditambahkan kembali sedikit demi sedikit agar fase diam tidak mengering dan proses elusi tetap berlangsung. Isolat hasil elusi yang keluar dari keran ditampung menggunakan botol fial sehingga diperoleh beberapa fraksi isolat. Hasil isolasi ini kemudian di analisis kembali menggunakan KLT untuk digabungkan kembali jika diperoleh pola noda tunggal dan faktor retensi (R_f) yang sama. Setelah digabungkan, dilakukan uji flavonoid untuk mengetahui fraksi yang mengandung flavonoid. Setelah itu isolat yang telah mengandung senyawa murni flavonoid diidentifikasi dan di uji aktivitas antioksidannya.

Uji Kemurnian

Isolat dari daun miana hasil kromatografi kolom diuji kemurniannya dengan kromatografi lapis tipis dua dimensi dengan menggunakan beberapa eluen. Jika isolat tetap menunjukkan pola

noda tunggal, maka hal tersebut menunjukkan bahwa isolat telah murni.

Identifikasi Senyawa

Isolat hasil pemisahan dan pemurnian dari ekstrak metanol yang telah diuji fitokimia dan telah di KLT, selanjutnya diidentifikasi menggunakan spektrofotometer UV-Vis, dan IR.

Penentuan Total Fenol

Standar asam galat dibuat dengan variasi konsentrasi 10-50 ppm dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 765 nm dan dibuat kurva standar untuk menentukan konsentrasi isolat yang akan diuji. Prosedur pengukuran sampel dilakukan dengan cara menimbang sampel sebanyak kurang lebih 12 mg untuk isolat lalu ditambahkan dengan 0,5 mL metanol, 2,5 mL aquadest dan 2,5 mL reagent Folin-Ciocalteau 50%. Campuran didiamkan selama 5 menit kemudian ditambahkan dengan 2 mL Na_2CO_3 7,5% dan divorteks lalu diinkubasi selama 2 jam di ruang gelap pada suhu 45°C. Absorbansi sampel diukur pada panjang gelombang 765 nm dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Nilai absorbansi yang diperoleh akan dipakai untuk menentukan konsentrasi sampel dengan menggunakan persamaan regresi yang telah diperoleh dari kurva standar ($y = ax + b$).

Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

Pengukuran aktivitas antioksidan pada penelitian ini dilakukan dengan menggunakan metode DPPH atau dikenal dengan perendaman radikal bebas 1,1-diphenil-2-pikrihidrazil. Metode DPPH merupakan metode yang sederhana, cepat dan mudah untuk penapisan aktivitas penangkapan radikal beberapa senyawa, selain itu metode ini terbukti akurat, efektif dan praktis (Molyneux, 2003).

Larutan DPPH dibuat dengan cara melarutkan kristal DPPH dalam pelarut metanol dengan konsentrasi 1 mM yang dilakukan pada suhu rendah serta terlindung dari cahaya. Antioksidan standar asam askorbat digunakan sebagai pembanding dibuat dengan konsentrasi 25, 50, 100, 200 dan 400 ppm.

Sampel isolat sebanyak kurang lebih 12 mg diencerkan dengan metanol hingga 10 mL. larutan ekstrak dan antioksidan pembanding asam askorbat (vitamin C) yang telah dibuat, masing-masing sebanyak 2,5 mL direaksikan dengan 2,5 mL larutan DPPH 1 mM dalam tabung reaksi dan diberi penanda (label). Sedangkan untuk larutan blanko dibuat dengan mencampurkan 2,5 mL metanol dengan 2,5 mL larutan DPPH 1 mM. Semua campuran tersebut diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit dan terlindungi dari cahaya matahari. Kemudian, diukur absorbansinya pada panjang gelombang 517 nm (Kubo et al, 2002).

Nilai absorbansi yang diperoleh akan dipakai untuk menentukan aktivitas antioksidan yang dinyatakan dengan AEAC (Ascorbic Acid Equivalent Antioxidant Capacity). Penentuan nilai AEAC (mg/L) menggunakan persamaan regresi yang telah diperoleh dari kurva standar asam askorbat ($y = ax + b$).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengambilan dan Preparasi Sampel

Bahan baku yang digunakan pada penelitian ini adalah daun miana (Coleus scutellaroides Benth.) yang tumbuh di daerah Gorontalo. Tanaman miana terlebih dahulu dideterminasi di laboratorium biologi UNG untuk menghindari kesalahan pengambilan sampel. Daun miana dipilih yang masih segar dan baik serta dipisahkan dari yang rusak. Daun miana kemudian dicuci untuk menghilangkan kotoran yang melekat. Setelah itu daun miana ditimbang dan dikeringkan dengan cara diangin-anginkan di udara terbuka. Pengeringan daun miana berlangsung selama kurang lebih 3 hari.

Proses pengeringan sampel daun miana dilakukan dengan cara diangin-anginkan pada suhu kamar tanpa paparan cahaya matahari langsung. Berat sampel segar yang diambil adalah 3,86 Kg. Sampel yang sudah kering dihaluskan dengan cara dipotong menjadi serbuk. Penghalusan sampel bertujuan untuk memaksimalkan proses maserasi. Berat serbuk halus yang diperoleh adalah 500 g dan rendemen ekstrak adalah 12,95% yang berarti daun miana kehilangan sekitar 87.05% beratnya pada proses pengeringan.

Ekstraksi dan Fraksinasi

Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstraksi secara maserasi. Sampel daun miana yang telah dirajang dalam bentuk serbuk ditimbang dan diekstraksi menggunakan metanol 4 x 24 jam di mana setiap 24 jam metanol diganti dengan yang baru. Maserat dievaporasi pada suhu 45 °C dengan bantuan alat pompa vakum. Ekstrak kental metanol daun miana yang diperoleh seluruhnya adalah 69,81 g dan rendemen tahap 2 adalah sebesar 13,96%.

Ekstrak kental metanol sebanyak 60 g disuspensi dengan campuran metanol.air dengan perbandingan (1:2) dan difraksinasi secara bertahap menggunakan n-heksan dan etil asetat. Hasil fraksinasi kemudian dipekatkan masing-masing menggunakan rotary evaporator dan pompa vakum sehingga diperoleh ekstrak n-heksan, etil asetat dan air seperti pada tabel 1.

Tabel 1. Berat ekstrak kental dari masing-masing fraksi

No	Fraksi	Berat (gram)	Rendemen (%)
1	N-heksan	2,21	3,68
2	Etil asetat	7,41	12,35
3	Metanol-air	15,06	25,10

Uji Fitokimia

Terhadap ekstrak metanol daun miana dan fraksi-fraksinya dilakukan uji fitokimia flavonoid. Hasil uji fitokimia flavonoid menunjukkan perubahan warna pada ekstrak metanol dan semua fraksi daun miana kecuali fraksi n-heksan, hal ini mengindikasikan bahwa ekstrak metanol dan semua fraksi mengandung senyawa flavonoid kecuali fraksi n-heksan.

Hasil uji fitokimia flavonoid ekstrak metanol daun miana dan fraksi-fraksinya dipaparkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil uji fitokimia flavonoid dari masing-masing fraksi

Uji Fitokimia	Pereaksi	Ekstrak				Perubahan yang terjadi
		M	N	E	A	
Flavonoid	NaOH	+	-	+	+	Perubahan warna
	H_2SO_4	+	-	+	+	Perubahan warna
	Mg-HCl	+	-	+	+	Perubahan warna

Keterangan: (M) metanol, (N) n-heksan, (E) etil asetat, (A) metanol-air

Pemisahan dan Pemurnian

Fraksi etil asetat miana merah yang diduga mengandung flavonoid aktif antioksidan sebanyak 6,82 gram diisolasi menggunakan variasi eluen yaitu n-heksan dan etil asetat dan metanol dengan berbagai perbandingan hingga diperoleh 68 fraksi isolat. Masing-masing isolat kemudian dipilih beberapa sebagai isolat perwakilan untuk diuji Kromatografi lapis tipis (KLT). Profil kromatogram KLT isolat hasil kolom gravitasi ekstrak etil asetat daun miana dapat dilihat pada gambar 1.

Gambar 1. Profil Kromatogram KLT isolat hasil kolom gravitasi (isolasi pertama) fraksi etil asetat daun miana dengan eluen n-heksan:etil asetat (3:7)

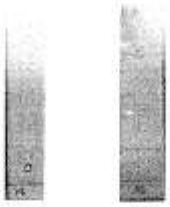
Isolat yang memiliki pola noda yang sama digabung menjadi 6 kelompok yaitu A (isolat 1-2), B (isolat 3-4), C (isolat 5), D (isolat 6-39), E (Isolat 40-52) dan F (isolat 53-68).

Isolat B diisolasi kembali karena terdapat banyak senyawa yang belum terpisah sempurna dan diduga senyawa flavonoid terdapat dalam isolat ini. Sebanyak 1,8 gram isolat B diisolasi dengan metode kromatografi kolom menggunakan fasa diam silika gel dan variasi eluen mulai dari n-heksan 100%, n-heksan + etil asetat 9:1 hingga etil asetat 100% dan dilanjutkan dengan eluen etil asetat + metanol 9:1 hingga metanol 100%. Hasil isolasi tahap dua ini menghasilkan 260 fraksi isolat.

Dari 260 fraksi yang diperoleh, fraksi yang berbentuk kristal terdapat pada fraksi nomor 71-172. Terhadap fraksi nomor 71-172 ini selanjutnya dilakukan analisis menggunakan kromatografi lapis tipis dengan pengembang (eluen) n-heksan:etil asetat (3:7). Hasil analisis kromatografi lapis tipis dapat dilihat pada gambar 2. untuk isolat 100-172.

Gambar 2. Profil Kromatografi Lapis Tipis hasil kolom gravitasi (isolasi kedua) isolat 100-172 Menggunakan Eluen n-heksan:etil asetat 3:7

Untuk menguji kemurnian isolat, dilakukan kembali analisis dengan kromatografi lapis tipis dengan pengembang (eluen) n-heksan:etil asetat (8:2) dan kloroform:metanol (9:1) pada salah satu isolat yang berada di kisaran isolat 71-172 yang sebelumnya telah diketahui memiliki pola noda tunggal yang sama dalam hal ini dipilih isolat nomor 102. Hasil analisis kromatografi lapis tipis dari isolat dapat dilihat pada gambar 3.



(a) (b)

Gambar 3. Profil Kromatografi Lapis Tipis Isolat 102 dengan berbagai eluen, n-heksan:etil asetat 8:2 (1) dan kloroform:metanol 9:1 (2)

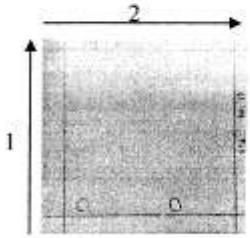
Berdasarkan Gambar 3, isolat yang diperoleh menghasilkan bercak noda tunggal yang menandakan bahwa isolat mengandung satu senyawa yang murni. Nilai R*f* isolat pada kromatografi lapis tipis ditunjukan pada tabel 3.

Tabel 3. Nilai R*f* Isolat Pada Dua Variasi Eluen

No	Fasa gerak (Eluen)	Nilai R*f*
1	n-heksan : etil asetat (8:2)	0,19
2	kloroform : metanol (9:1)	0,80

Selanjutnya terhadap isolat 102 dilakukan analisis dengan kromatografi lapis tipis dua dimensi dengan menggunakan eluen n-heksan:etil asetat (8:2) dan kloroform:metanol (9:1). Kromatografi lapis tipis dua dimensi menghasilkan bercak noda tunggal berwarna ungu jika dilihat dari lampu UV. Dari hasil uji ini mengindikasikan bahwa isolat yang diperoleh merupakan isolat murni.

Hasil uji kemurnian terhadap isolat yang dilakukan dengan teknik kromatografi lapis tipis dua dimensi disajikan pada Gambar 4.



Gambar 4. Profil Kromatografi Lapis Tipis Dua Dimensi Isolat 102 dengan Menggunakan Eluen n-heksan:etil asetat 8:2 (1) dan kloroform:metanol 9:1 (2).

Nilai R*f* isolat pada kromatografi lapis tipis dua dimensi ditunjukkan pada Tabel 4.

Tabel 4. Nilai R*f* Isolat Pada KLT Dua Dimensi

No	Fasa Gerak (Eluen)	Nilai R*f*
1	n-heksan : etil asetat (8:2)	0,17
2	kloroform : metanol (9:1)	0,60

Terhadap isolat dilakukan uji fitokimia flavonoid. Hal ini dilakukan untuk mengetahui senyawa yang terkandung pada isolat. Berdasarkan uji fitokimia diperoleh hasil yang positif yaitu perubahan warna sampel dari kuning menjadi jingga yang mengindikasikan bahwa isolat merupakan flavonoid.

Identifikasi Senyawa

Identifikasi senyawa flavonoid pada penelitian ini dilakukan dengan menggunakan spektrofotometri Infra red (IR). Spektrofotometri IR dilakukan untuk mengetahui gugus fungsi yang terkandung pada sampel isolat. Hasil pembacaan Infra merah dapat dilihat pada Gambar 5.

Gambar 5. Spektrum IR isolat flavonoid

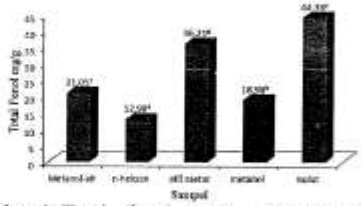
Hasil pembacaan spektrum pada spektrofotometer IR menunjukkan adanya gugus fungsi OH yang ditandai oleh pita serapan pada bilangan gelombang 3344,8 cm^{-1}. Selain itu juga terdapat gugus C-H aromatik yang ditandai oleh pita serapan pada bilangan gelombang 829,9 cm^{-1}

Pada pembacaan spektrum juga terdeteksi gugus C=C aromatik yang ditandai oleh pita serapan pada bilangan gelombang 1459,0 cm^{-1} dan 1609,6 cm^{-1} dan beberapa gugus C-H alifatik yang datanya dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Data Spektrum Spektrofotometri Inframerah dari Isolat Daun Miana

Isolat	Bilangan Gelombang (cm^{-1}) (Sukadana, 2011)	Bilangan Gelombang (cm^{-1}) Creswell, dkk (2005)	Bentuk Pita	Intensitas	Penempatan gugus
829,9	650-1000	650-1000	Tajam	Lemah	C-H Aromatik
1032,5	990-1100	1000-1260	Tajam	Sedang	C-O Alkohol
1182.7	-	1000-1260	Tajam	Sedang	C-O Alkohol
1245,2	-	1000-1260	Tajam	Sedang	C-O Alkohol
1364,0	-	1220-1370	Tajam	Sedang	C-H Alifatik
1459,0	1400-1650	-	Tajam	Sedang	C=C Aromatik
1609,6	1400-1650	-	Tajam	Sedang	C=C Aromatik
2854,6	2800-2950	2700-3000	Tajam	Sedang	C-H Alifatik
2926,0	2800-2950	2700-3000	Tajam	Tinggi	C-H Alifatik
3344,8	3000-3500	3200-3400	Melebar	Lemah	O-H

Berdasarkan data spektrum dari spektrofotometri IR pada tabel 5, diketahui bahwa isolat mengandung beberapa gugus seperti O-H, C=C aromatik, C-H aromatik, C-O alkohol dan C-H alifatik yang diduga merupakan senyawa golongan flavonoid. Berdasarkan perhitungan, diperoleh nilai total fenol pada isolat flavonoid daun miana. Selanjutnya nilai total fenol dibandingkan dengan nilai total fenol ekstrak dan fraksi daun miana yang sebelumnya telah dilaporkan oleh Duengo dan Salimi (2014) yang hasilnya dapat dilihat pada Gambar 6.

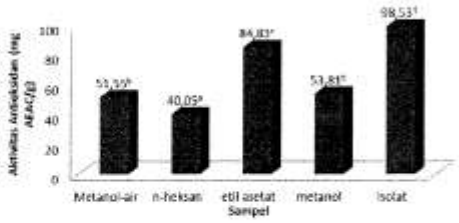


Gambar 6. Total fenol Pada Ekstrak Berbagai Fraksi dan Isolat flavonoid Daun Miana

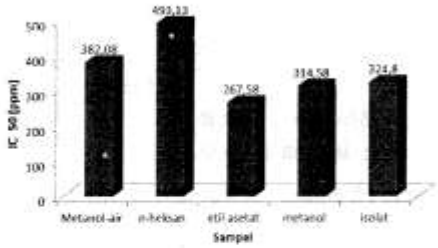
Berdasarkan Gambar 6, isolat flavonoid daun miana memiliki kandungan total fenol yang paling tinggi dibandingkan ekstrak berbagai fraksi daun miana. Hasil uji statistik anova satu jalur menunjukkan terdapat perbedaan yang nyata pada total fenol isolat dan berbagai ekstrak. Hasil uji lanjut yaitu uji duncan kandungan total fenol pada daun miana berturut-turut adalah Isolat > fraksi etil asetat > fraksi metanol-air > ekstrak metanol > fraksi n-heksan.

Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

Nilai aktivitas antioksidan yang diperoleh pada isolat adalah sebesar 98,53 mg AEAC/g yang berarti tiap gram isolat setara dengan 98,53 mg vitamin C. Nilai aktivitas antioksidan isolat kemudian dibandingkan dengan aktivitas antioksidan ekstrak dari berbagai fraksi daun miana berdasarkan hasil penelitian yang sebelumnya telah dilaporkan oleh Duengo dan Salimi (2014). Aktivitas antioksidan isolat dan ekstrak dari berbagai fraksi daun miana dapat dilihat pada Gambar 7



Gambar 7. Aktivitas Antioksidan Pada Ekstrak Berbagai Fraksi dan Isolat Flavonoid daun miana



Gambar 8. Aktivitas Antioksidan (IC_{50}) Pada Ekstrak Berbagai Fraksi dan Isolat Flavonoid daun Miana.

Berdasarkan Gambar 7, isolat memiliki aktivitas antioksidan paling tinggi, hal ini disebabkan oleh kandungan senyawa pada isolat lebih murni dibandingkan dengan ekstrak dan fraksi sehingga tidak terdapat senyawa lain yang mempengaruhi aktivitas antioksidannya. Berdasarkan uji statistik anova satu jalur, terdapat perbedaan yang nyata pada aktivitas antioksidan isolat dan berbagai ekstrak. Hasil uji lanjut yaitu uji duncan kandungan antioksidan pada daun miana berturut-turut adalah Isolat > fraksi etil asetat > fraksi metanol-air = ekstrak metanol > fraksi n-heksan.

Aktivitas antioksidan juga dinyatakan dalam IC_{50} (Inhibitor Concentration) yaitu besar konsentrasi yang dibutuhkan untuk menghambat 50% radikal bebas, oleh karena itu semakin kecil nilai IC_{50} maka semakin besar aktivitas antioksidan. Berdasarkan perhitungan sesuai dengan lampiran 5, nilai IC_{50} dari isolat adalah sebesar 324,80 ppm yang berarti dibutuhkan 324,80 ppm isolat untuk menghambat 50% radikal bebas. Nilai IC_{50} pada isolat ini berada pada kisaran 250-500 ppm jika dilihat dari tingkatan kekuatan antioksidannya dan termasuk pada tingkatan lemah. Adapun grafik perbandingan IC_{50} isolat flavonoid dengan ekstrak berbagai fraksi daun miana dapat dilihat pada Gambar 8.

PENUTUP

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa: (1) senyawa flavonoid pada daun miana dapat diisolasi melalui serangkaian tahapan yaitu fraksinasi menggunakan pelarut dengan kepolaran yang berbeda, kromatografi menggunakan berbagai variasi eluen dan pemurnian senyawa. Hasil analisis menggunakan spektrofotometer infra merah menunjukkan bahwa isolat mengandung beberapa gugus fungsi seperti OH, C=C aromatik, C-H aromatik, dan C-H alifatik yang diduga merupakan senyawa golongan flavonoid; (2) senyawa flavonoid dari daun miana memiliki aktivitas antioksidan, berdasarkan hasil analisis diperoleh nilai AEAC sebesar 98,53 mg AEAC/gram sampel dan IC50 sebesar 324,80. Nilai IC_{50} tersebut termasuk dalam tingkatan lemah (berada dalam kisaran 250-500 ppm).

Setelah diketahui Adanya senyawa golongan flavonoid yang memiliki aktivitas antioksidan pada daun miana perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk mengetahui struktur senyawa flavonoid isolat menggunakan LC-MS dan NMR. Diharapkan juga masyarakat mengkonsumsi daun miana sebagai suplemen herbal yang alami karena daun miana mengandung senyawa yang aktif antioksidan dan dapat memberikan manfaat bagi kesehatan.

DAFTAR PUSTAKA

Duengo, Suleman., Yuszda, K. Salimi. 2014. *Aktivitas Antioksidan dan Antikanker*

Tumbuhan Obat Miana (Coleus atropurpureus (L.) Benth) Asal Gorontalo. Gorontalo: Universitas Negeri Gorontalo.

Harborne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia, Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Bandung: Institut Teknologi Bandung.

Hardiyanti, Yuniar., Djaswir Darwis., Adlis Santoni. 2013. Ekstraksi dan Uji Antioksidan Senyawa Antosianin Dari Daun Miana (Coleus scutellarioides L (Benth)) Serta Aplikasi Pada Minuman. *Jurnal Kimia Unand* (ISSN No. 2303-3401), Volume 2 Nomor 2.

Kubo, IN., MasuokaP, Xiao, Heraguchi. 2002. Antioxidant activity of dedocyl gallate. *J Agr Food Chem*. 50:3533-3539.

Molyneux, P. 2003. The use of the stable free radikal *diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for* estimating *antioxidant activity*. *Journal Science of Technology*. 26(2):211-219.