

Comparison of Flavonoid Levels as Free Radical Scavenger Markers in Ethanolic Extract of Beluntas (*Pluchea Indica L.*) Leaves Grown in Lowland (Margoyoso) and Highland (Colo)

¹ Nur Hariyati, ² Naniek Widyaningrum, ³ Hudan Taufiq

¹ Prodi Farmasi, Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Sultan Agung

*Corresponding Author:
Nurhariyati205@gmail.com

Abstrak

Daun beluntas (Pluchea indica L) banyak digunakan sebagai obat herbal untuk mengobati berbagai penyakit. Kandungan senyawa terkandung dalam daun beluntas antara lain flavonoid, lignan dan tanin berkhasiat sebagai antioksidan. Antioksidan merupakan substansi yang dapat memberikan perlindungan dari kerusakan akibat radikal bebas. Daun beluntas diketahui memiliki aktivitas anti radikal bebas tetapi tempat tumbuh optimal untuk menghasilkan aktivitas yang kuat belum diketahui. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbandingan kadar flavonoid sebagai marker anti radikal bebas pada ekstrak etanolik daun beluntas (EEDB) yang tumbuh di dataran rendah Margoyoso dan tinggi Colo.

Penelitian ini bersifat analitik observasional menggunakan rancangan penelitian cross sectional. Hasil penelitian menunjukkan kadar kuersetin EEDB dari Margoyoso dan Colo berturut – turut 73,10 dan 82,40 ppm. Kadar rutin EEDB dari Margoyoso dan Colo adalah 36,37 dan 58,31 ppm. Adapun kadar aktivitas antiradikal bebas ekstrak etanolik daun beluntas (EEDB) Margoyoso dan Colo sebesar 127,811 dan 71,561 ppm perbedaan hasil dipengaruhi faktor ketinggian, pH tanah, paparan sinar matahari dan habitat.

Kesimpulan penelitian ini adalah terdapat perbedaan antara kadar kuersetin, kadar rutin, dan aktivitas anti radikal bebas ekstrak etanolik daun beluntas (EEDB) dari dataran rendah Margoyoso dan tinggi Colo. Aktivitas antiradikal bebas (EEDB) dari Margoyoso masuk kategori sedang dan dari Colo berkategori kuat.

Kata Kunci: Daun beluntas (*Pluchea indica L*), antiradikal bebas, DPPH, IC₅₀

Abstract

*Beluntas leaves (*Pluchea indica* L) are widely used as herbal medicine to treat various diseases. The compounds contained in beluntas leaves include flavonoids, lignans, and tannins that have antioxidant properties. Antioxidants are substances that provide protection against damage caused by free radicals. Beluntas leaves are known to have anti-free radical activity, but the optimal growing conditions for producing strong activity are not yet known. This research aims to determine the comparison of flavonoid levels as markers of anti-free radical activity in ethanol extract of beluntas leaves (EEDB) grown in the lowland of Margoyoso and the highland of Colo.*

This study is an analytical observational study using a cross-sectional research design. The results of the study showed that the quercetin content of EEDB from Margoyoso and Colo were 73.10 and 82.40 ppm, respectively. The rutin content of EEDB from Margoyoso and Colo were 36.37 and 58.31 ppm, respectively. The levels of anti-free radical activity in ethanol extract of beluntas leaves (EEDB) from Margoyoso and Colo were 127.811 and 71.561 ppm, respectively. The differences in the results were influenced by factors such as altitude, soil pH, sunlight exposure, and habitat.

The conclusion of this study is that there are differences in the levels of quercetin, rutin, and anti-free radical activity in ethanol extract of beluntas leaves (EEDB) from the lowland of Margoyoso and the highland of Colo. The anti-free radical activity of EEDB from Margoyoso falls into the moderate category, while that from Colo falls into the strong category.

Keywords: *Beluntas leaves (*Pluchea indica* L), free radicals, DPPH, IC50.*

1. PENDAHULUAN

Lebih dari 30.000 spesies tumbuhan tingkat tinggi, Indonesia adalah tempat yang memiliki banyak sekali jenis tumbuhan dan hewan (Riskiyani *et al.*, 2020). Pemanfaatan tanaman sebagai obat perlu memperhatikan kandungan senyawa dan kadar marker dari tanaman yang akan dipakai sehingga dapat dijamin khasiat efek dan keamanannya. Salah satu contoh tanaman yang dapat kita temui di pekarangan rumah dan bermanfaat sebagai obat adalah tanaman beluntas (Sibarani *et al.*, 2013)

Beluntas sendiri merupakan salah satu tanaman dari famili Asteraceae, biasanya tumbuh di daerah kering pada tanah yang keras dan berbatu, pada daerah dataran rendah hingga dataran tinggi (Widyawati *et al.*, 2015). Penelitian yang dilakukan oleh Wanita (2019), ekstrak etanol dari daun beluntas mengandung fenolik seperti flavonoid, lignan, dan tanin, yang mempunyai kerja antioksidan kuat sebab IC₅₀ kurang dari 50 ppm. Namun demikian tempat tumbuh beluntas yang optimal belum diketahui.

Penelitian yang dilakukan oleh Rubani (2022), mengemukakan tempat tumbuh pada altitude tinggi (26,57±0,24) ketinggian (1000–1400) mdpl memiliki total flavonoid terbesar dibandingkan dengan altitude rendah (5,63±0,26) ketinggian (200-600) mdpl dan sedang (10,28±0,28) ketinggian (600-1000) mdpl. signifikan dalam produksi dan akumulasi metabolit primer dan sekunder, terutama metabolit sekunder yang dapat menjadi senyawa penanda (marker) (Rachmadiarti *et al.*, 2019). Faktor yang dapat mempengaruhi kandungan senyawa metabolit dan kadar marker selain ketinggian

tempat tumbuh adalah suhu, cahaya, kelembaban, nilai pH atau kualitas tanah di tempat tumbuh (Safrina & Priyambodo, 2018 ; Hadiyanti & Pardono, 2018).

Penelitian yang dilakukan oleh Koirewoa *et al.* (2013), menyatakan bahwa hasil isolasi dan identifikasi senyawa flavonoid daun beluntas adalah golongan flavonol yaitu kuersetin dan rutin. Penelitian lain oleh Widyawati *et al.* (2018) menunjukkan bahwa senyawa flavonoid memberikan kontribusi sebesar 63,1 persen dari kemampuan melawan radikal bebas secara keseluruhan dalam penelitiannya. Berdasarkan uraian yang telah dipaparkan diketahui ekstrak daun beluntas memiliki aktivitas anti radikal bebas dikarenakan memiliki kandungan senyawa marker flavonoid, tetapi tempat tumbuh optimal dari tumbuhan beluntas untuk menghasilkan aktivitas yang kuat tersebut belum diketahui.

Berdasarkan latar belakang di atas, pertanyaan penelitian dapat dirumuskan sebagai berikut: Bagaimana perbandingan kadar flavonoid sebagai marker anti radikal bebas pada ekstrak etanolik daun beluntas (*Pluchea indica* L) yang tumbuh di dataran rendah Margoyoso dan tinggi Colo?

Sedangkan Tujuan dari penelitian ini adalah Mengetahui perbandingan kadar flavonoid sebagai marker anti radikal bebas pada ekstrak etanolik daun beluntas (*Pluchea indica* L) yang tumbuh di dataran rendah Margoyoso dan tinggi Colo.

Tanaman Beluntas



Gambar 1. Daun Tanaman Beluntas (*Pluchea indica* L) (Dokumentasi Pribadi, 2022)

Beluntas adalah tanaman perdu tegak, bercabang banyak dan memiliki ketinggian 0,5 - 2 m. Daun beluntas berambut dan berwarna hijau muda. Helaian daun beluntas berbentuk oval elips atau bulat telur terbalik dengan pangkal daun runcing dan tepi daunnya bergigi. Letak daun beluntas berseling, bertangkai pendek dengan panjang daun sebesar 2,5 - 9 cm dan lebar 1 cm. Bunga beluntas adalah bunga majemuk dengan bentuk kepala kecil yang terkumpul pada sambungan terminal pada umbi pipih, kepala sarinya berwarna ungu, dan putiknya memiliki dua cabang yang menonjol berwarna ungu. Buah dari tanaman beluntas berbentuk gasing, keras dan berwarna coklat. Buah beluntas berukuran sangat kecil, panjang 1 mm, berbiji tidak besar dan warnanya coklat bercampur putih (Khodaria, 2013).

Penelitian yang dilakukan oleh Ahemd (2013), tumbuhan beluntas juga mengandung fenol, saponin, sterol, dan minyak atsiri, lorgenik, alumunium, magnesium, dan fosfor, serta banyak senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, tanin, alkaloid, sesquiterpenoid, monoterpen, glikosida, lignan, dan triterpenoid (Widyawati *et al.*, 2014). Daun beluntas memiliki banyak senyawa fitokimia, termasuk lignan, terpena, fenilpropanoid, bensoid, alkana, sterol, 2- (prop-1-unil)5- (5,6-dihidroksi heksa-1,3-

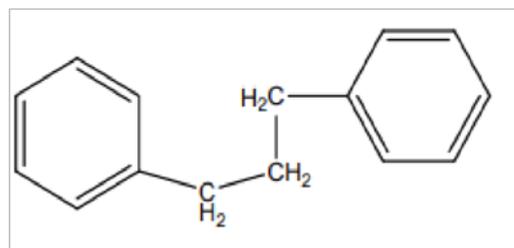
diunil) tiofena, (-) katekin, fenol hidrokuinon, saponin, tanin, alkaloid, dan flavonol, seperti kuersetin, kaemferol, dan mirisetin (Wanita, 2019).

Beluntas adalah jenis tanaman khusus yang telah lama digunakan orang untuk membantu mereka merasa lebih baik dan bisa melakukan banyak hal baik untuk tubuh kita, seperti membuat nafas harum, membantu perut merasa lebih baik, dan bahkan membuat tulang dan punggung tidak terlalu sakit atau dapat membantu masalah lain seperti demam dan masalah tertentu yang mungkin dialami anak perempuan. Semua kebaikan tersebut berasal dari zat kimia khusus yang ada pada daun tanaman beluntas (Fitriansyah & Raden, 2017). Fitokimia yang terkandung dalam daun beluntas juga memiliki beberapa efek biologis, termasuk efek antioksidan (Wanita, 2019).

Pengambilan daun dilakukan pada daun yang memiliki kondisi yang baik antara lain berwarna hijau muda, tidak busuk dan tidak berlubang dimakan serangga. Pengambilan daun diambil dari urutan ke 1-6 (dari pucuk daun) karena pada bagian tersebut merupakan daun yang paling baik sehingga memiliki kandungan zat yang lebih banyak (Wicaksono *et al.*, 2019).

Pada pagi hari, daun mulai membuka stomata (lubang-lubang kecil) sedikit, tetapi lubangnya masih kecil. Sekitar jam 9-10 jumlah stomata bertambah dan lubang terbesar semakin lebar. Pada jam 11, stomata mulai mengecil lagi. Pukul 12:00 siang. stomata menjadi jauh lebih kecil. Pada pukul 14:00. ada lonjakan lagi dan pada pukul 15:00-17:00. WIB turun lagi. Pengambilan sampel berlangsung antara pukul 09:00 dan 10:00. Ini berkaitan dengan pembukaan stomata; ini terkait dengan transpirasi dan fotosintesis, serta dengan cara stomata mengeluarkan cairan dari sel selama transpirasi (Fatonah *et al.*, 2013).

Flavonoid memiliki berbagai efek bioaktif, seperti antiinflamasi, antipenuaan, antioksidan, dan antivirus. Flavonoid adalah polifenol berkarbon 15 dengan konfigurasi C6-C3-C6, artinya kerangka karbonnya terdiri dari dua gugus C6 (cincin benzena tersubstitusi) yang terhubung oleh rantai alifatik tiga karbon. Jumlah flavonoid yang diperlukan untuk tumbuhan bervariasi dari 20 mg hingga 500 mg. Flavonoid meningkatkan warna buah, bunga, dan daun menjadi kuning, merah, oranye, biru, dan ungu. Flavonoid termasuk dalam famili polifenol yang larut dalam air (Arifin & Ibrahim, 2018). Gambar Struktur flavonoid dapat dilihat pada gambar 2



Gambar 2. Struktur flavonoid (Noer *et al.*, 2018)

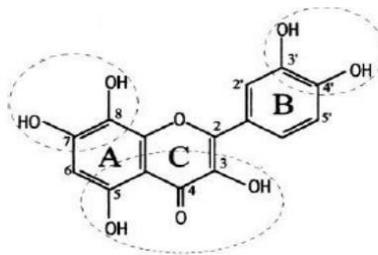
Radikal bebas atau *Reactive Oxygen Species* (ROS) merupakan molekul yang terbentuk ketika molekul oksigen bergabung dengan molekul lain sehingga menghasilkan elektron ganjil. Molekul oksigen memiliki elektron berpasangan yang bersifat stabil, bila terdapat elektron tidak berpasangan pada orbit luarnya maka oksigen akan bersifat

reaktif dan tidak stabil. ROS terbentuk secara endogen atau fisiologis dan eksogen. ROS endogen terbentuk secara fisiologis berasal dari hasil metabolisme normal tubuh.

Faktor eksogen berasal dari sumber lingkungan seperti radiasi ultraviolet, obat, polusi udara dan asap rokok. Pembentukan ROS paling banyak disebabkan oleh UVA (Andarina & Djauhari, 2017).

Salah satu metabolite sekunder yang memiliki aktivitas anti radikal bebas pada daun beluntas adalah senyawa flavonoid (Silalahi, 2019). Mekanisme kerja anti radikal bebas dalam flavonoid adalah mencegah pembentukan ROS, baik dengan menghambat enzim atau dengan mengikat elemen jejak yang terkait dengan pembentukan radikal bebas, sehingga mendeteksi ROS dan regulasi atau perlindungan pertahanan antioksidan ditingkatkan (Widiasari, 2018).

Efektivitas flavonoid sebagai antioksidan terutama ditunjukkan dengan adanya struktur orto-dihidroksi (katekol) pada cincin-B, adanya ikatan rangkap pada C2-3 yang terkonjugasi dengan gugus C4 okso-fungsional, dan gugus OH pada C3 pada cincin menentukan gugus C dan OH pada C5 pada cincin A. C3 Kombinasi gugus -OH dan C5 OH dengan ikatan rangkap karbonil C4 dan C2-3 dapat meningkatkan penangkapan radikal bebas (Widyawati *et al.*, 2018). Gambar bagian struktur flavonoid yang memiliki aktivitas anti radikal bebas dapat dilihat pada gambar 2.5.



Gambar 3. Bagian struktur flavonoid yang bertanggung jawab sebagai aktivitas anti radikal bebas (Widyawati *et al.*, 2018)

Berbagai metode, seperti ORAC (Kapasitas Absorbansi Radical Oksigen), TRAP (Kapasitas Antioksidan *Radical Trapping Total*), TEAC (Kapasitas Antioksidan Trolox Sebanding), PRSC (Kapasitas *Scavenging Radical Peroxyl*), DPPH (2,2-Diphenylpicrylhydrazyl), TOSC (Kapasitas Total Radical Oksigen), dan FRAP (Ferric Reducti (Hidayah *et al.*, 2015). Metode DPPH dapat digambarkan sebagai senyawa $C_{18}H_{12}N_5O_6$, yang merupakan radikal bebas stabil dan tidak membentuk dimer karena transfer elektron bebas ke seluruh molekul. Delokalisasi elektron bebas mengarah pada pembentukan warna ungu dalam larutan DPPH, yang memungkinkan absorbansi diukur pada panjang gelombang sekitar 520 nm (Maesaroh *et al.*, 2018).

Perubahan warna menyebabkan perubahan absorbansi pada panjang gelombang maksimum DPPH, yang dapat diukur dengan spektrofotometer ultraviolet-tampak. Kemudian telah diketahui bahwa nilai konsentrasi hambat (IC_{50}) adalah ukuran aktivitas antioksidan. IC_{50} adalah nilai konsentrasi penghambat, yang berarti konsentrasi suatu senyawa uji yang memiliki kemampuan untuk mengurangi radikal bebas sebesar 50%. Semakin rendah nilai IC_{50} , semakin tinggi aktivitas penangkapan radikal bebas (Lukiyono *et al.*, 2020). Keunggulan DPPH adalah metode analitiknya sederhana, cepat,

ringan dan sensitif terhadap sampel dengan konsentrasi rendah. DPPH juga memiliki kelemahan yaitu hanya dapat larut dalam pelarut organik, sehingga sulit untuk menganalisis senyawa hidrofilik (Wulansari, 2018). Tingkat Kekuatan Anti Radikal Bebas dengan Metode DPPH dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Tingkat Kekuatan Anti Radikal Bebas Berdasarkan Konsentrasi Menggunakan Metode DPPH

Kekuatan ARB	Konsentrasi (ppm)
	Sangat <50
	Kuat 51-100
	Sedang 101-150
	Lemah >150

(Kurniasih *et al.*, 2015) Ket : ARB : aktivitas antiradikal bebas

Terdapat beberapa senyawa yang terkandung dalam daun beluntas diantaranya senyawa golongan flavonoid, lignan dan tanin yang berkhasiat sebagai anti radikal bebas (Wanita, 2019). Senyawa flavonoid berfungsi sebagai anti radikal bebas dengan mendonasikan atom hidrogen dan menghambat oksidasi lipid (Ruma & Zipagang, 2015). Hasil penelitian oleh Rubani (2022) menunjukkan bahwa perbedaan ketinggian lokasi tempat tumbuh menghasilkan kadar total flavonoid dimana konsentrasi terbesar dihasilkan pada altitud tinggi. Total flavonoid juga berpengaruh terhadap daya anti radikal bebas. Anti radikal bebas adalah senyawa yang dapat menghambat reaksi oksidasi dengan mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif (Amin *et al.*, 2013). Perbedaan lokasi tumbuh berpengaruh pada produksi dan akumulasi metabolit primer dan sekunder termasuk metabolit sekunder yang bisa menjadi senyawa penciri (marker) (Pavarini, 2012 ; Gutbrodt, 2012). Kadar marker juga dapat dipengaruhi oleh faktor lingkungan yang berbeda, seperti suhu, cahaya, kelembapan, pH maupun kualitas tanah tempat tumbuh (Safrina, 2018; Hadiyanti, 2018).

2. METODE

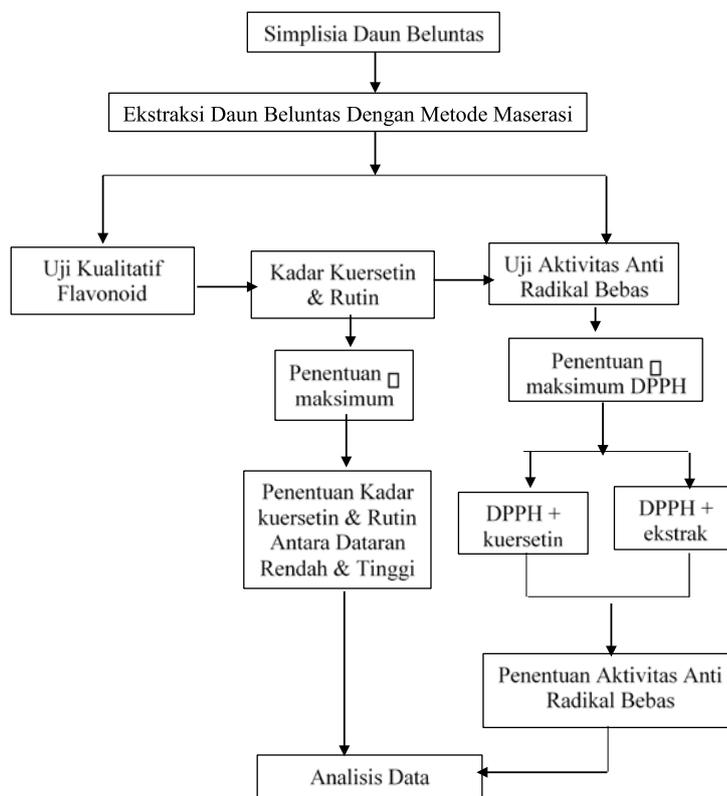
Jenis penelitian ini termasuk penelitian analitik observasional menggunakan rancangan penelitian *cross-sectional*. Variabel Dependent dalam penelitian ini adalah perbedaan lokasi tempat tumbuh tanaman beluntas (*Pluchea indica* L). Variabel *Independent* dalam penelitian ini adalah kadar flavonoid sebagai marker anti radikal bebas.

Penelitian ini melibatkan penggunaan berbagai instrumen dan bahan yang diperlukan. Instrumen yang digunakan meliputi timbangan digital Mettler Toledo dengan ketelitian 0,01 gram, lemari pengering dengan kapasitas 20 rak untuk pengeringan, blender Kruscheff, ayakan dengan mesh 40 (40 lubang per inci persegi), alat-alat gelas Pyrex, mikropipet 100-1000 mL dari Socorex, dan spektrofotometer Cary 60 UV-VIS dari Agilent, Amerika Serikat. Selain itu, juga digunakan alat Soil Survey Instrument 4 inci dari Alnindo Elektronik, Indonesia.

Bahan penelitian yang digunakan dalam eksperimen ini meliputi daun beluntas (*Pluchea indica* L) yang diperoleh dari daerah Margoyoso dan Colo. Selain itu, bahan kimia yang

digunakan meliputi etanol p.a (Merck), etanol 70% (Teknis), larutan AlCl₃ p.a (Merck), NaOH p.a (Merck), HCl pekat p.a (Merck), serbuk Mg p.a (Merck), natrium asetat p.a (Merck), dan asam asetat p.a. Semua bahan ini merupakan komponen penting dalam pelaksanaan eksperimen dan analisis yang dilakukan dalam penelitian ini.

Bagian penelitian ini berfokus pada penentuan kadar flavonoid dalam ekstrak daun beluntas. Tahap awal melibatkan identifikasi flavonoid, di mana 1 gram ekstrak etanolik 70% dari daun beluntas dilarutkan dalam 5 mL etanol. Selanjutnya, 1 mL dari ekstrak tersebut dicampurkan dengan 2-4 tetes HCl pekat dan sedikit serbuk Mg. Reaksi positif ditandai dengan perubahan warna dari kuning menjadi orange, sesuai dengan metode yang dijelaskan oleh Ikalinus et al. (2015). Tahap identifikasi ini merupakan langkah penting dalam analisis, yang akan memberikan wawasan mengenai keberadaan flavonoid dalam ekstrak daun beluntas.



Gambar 4. Alur penelitian

Hasil yang diperoleh dari uji aktivitas anti radikal bebas, kadar rutin, dan kadar kuersetin pada ekstrak etanolik daun beluntas dari Margoyoso dan Colo diuji normalitas menggunakan uji *Shapiro wilk* dan uji homogenitas menggunakan *levene Test*. Perbedaan aktivitas anti radikal bebas dan kadar kuersetin EEDB antara Margoyoso dan Colo yang diperoleh tidak normal dan homogen maka diuji dengan uji *Mann Whitney*, sedangkan kadar rutin EEDB antara Margoyoso dan Colo yang diperoleh normal dan homogen sehingga diuji dengan *independent T-Test*.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian dilaksanakan pada bulan Desember 2022 – Februari 2023 di Laboratorium Prodi Farmasi Fakultas Kedokteran Unissula Semarang dan Laboratorium Biologi UNNES. Tujuan riset ini agar bisa mengetahui kadar flavonoid yaitu kuersetin dan rutin sebagai marker anti radikal bebas menggunakan metode DPPH dari dua tempat tumbuh yang berbeda ketinggian. Penelitian ini dilakukan dengan beberapa tahap diantaranya determinasi dan penentuan profil tempat tumbuh daun beluntas, ekstraksi, uji kualitatif flavonoid, uji kadar kuersetin dan rutin, uji aktivitas anti radikal bebas pada ekstrak etanolik daun beluntas dan langkah analisis data. Uji kualitatif dilakukan untuk identifikasi adanya flavonoid dalam ekstrak daun beluntas menggunakan uji *Wilstatter*

Tanaman beluntas diperoleh dari daerah Margoyoso dan Colo. Determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas MIPA Universitas Negeri Semarang (UNNES). Berdasarkan hasil determinasi sampel benar - benar daun beluntas maka tanaman beluntas (*Pluchea indica* L) dari famili Asteraceae

Adapun profil tempat tumbuh daun beluntas tersaji pada tabel 2.

Aspek	Margoyoso	Colo
pH tanah	6,8	4,5
Intensitas cahaya	<i>Low</i> (cahaya redup)	<i>Nor</i> (cahaya normal)
Altitude	113 mdpl	1600 mdpl
Suhu	33 °C	26 °C
Habitat	Dataran rendah, Warna tanah cokelat kemerahan, Tekstur tanah kering. Tanaman disekitar rerumputan liar.	Dataran tinggi, Warna tanah cokelat kehitaman, Tekstur tanah basah. Tanaman di sekitar pohon alpukat

Mdpl : meter di atas permukaan laut °C : celcius

Tabel 2. Profil Tempat Tumbuh Daun Beluntas Antara Margoyoso dan Colo

Ekstraksi dilakukan menggunakan metode maserasi dan data % rendemen serta kadar air tersaji pada tabel 3.

Parameter	Margoyoso	Colo
Kadar Air Simplisia ¹⁾	8,16 %	7,62 %
Kadar Air Ekstrak ¹⁾	5,87 %	5,85 %
% Rendemen ²⁾	17,85 %	21 %

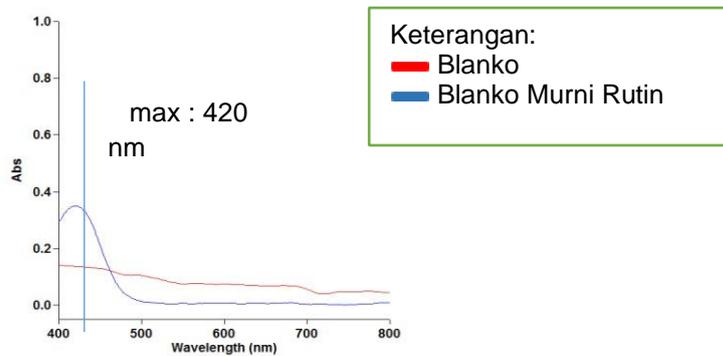
Tabel 3. Data % Rendemen dan Kadar Air Ekstrak Daun Beluntas Antara Margoyoso Dan Colo

Uji kualitatif dilakukan untuk identifikasi adanya flavonoid dalam ekstrak daun beluntas menggunakan uji *Wilstatter*. Hasil uji kualitatif flavonoid tersaji pada tabel 4.

Tempat Tumbuh	Hasil Uji	Keterangan
Margoyoso	Warna (+) jingga	Flavonoid
Colo	Warna (+) jingga	Flavonoid

Tabel 4. Hasil uji kualitatif flavonoid

Hasil dari penentuan panjang gelombang maksimum rutin disajikan pada gambar 5.



Gambar 5. Hasil Scan Panjang Gelombang Rutin Pada 400 – 800 nm

Adapun hasil penetapan kadar kuersetin dan rutin EEDB dari daerah Margoyoso & Colo disajikan pada tabel 5.

Replikasi	Kadar kuersetin (%)		Kadar rutin (%)	
	Margoyoso	Colo	Margoyoso	Colo
I	7,310	8,316	3,765	5,768
II	7,311	8,251	3,618	5,856
III	7,310	8,155	3,637	5,871
Rata – rata	7,310	8,240	3,637	5,831
SD	0,005	0,809	0,799	0,556

Keterangan : EEDB = Ekstrak Etanolik Daun Beluntas
SD = Standar Deviasi

Tabel 5. Hasil Penetapan Kadar Kuersetin Dan Rutin Total EEDB dari Daerah Margoyoso & Colo

Determinasi yaitu langkah awal untuk mengetahui kebenaran tentang jenis tanaman yang akan digunakan dan menghindari kesalahan penelitian (Hanifah, 2014). Langkah ini perlu dilakukan dengan tujuan untuk memastikan apakah tanaman yang akan diuji merupakan spesies dari *Pluchea indica* L. Less. Jika ada kesalahan dalam proses determinasi maka akan terjadi kesalahan pada pengumpulan bahan yang akan diteliti (Mulangsri *et al.*, 2017).

Pengecekan faktor lingkungan tanaman beluntas didapatkan hasil yang berbeda dari dua tempat tumbuh yaitu Margoyoso dan Colo, seperti pH tanah & kelembapan, intensitas cahaya, ketinggian tempat tumbuh, suhu dan habitat. Kondisi tempat tumbuh yang berbeda tersebut dapat mempengaruhi produksi dari metabolit sekunder yang dihasilkan dan nantinya akan berpengaruh terhadap nilai kadar senyawa tertentu dalam suatu tanaman (Rachmadiarti *et al.*, 2019).

Ekstraksi yaitu suatu proses pemisahan bahan campuran dengan menggunakan pelarut yang sesuai pada kandungan dalam tanaman tersebut dimana tujuannya untuk menarik komponen kimia yang terdapat pada tanaman. Dalam penelitian ini digunakan pelarut etanol merupakan pelarut yang bersifat polar dan merupakan pelarut yang serba guna dan sangat baik digunakan sebagai ekstraksi pendahuluan. Pelarut etanol memiliki sifat untuk menembus bahan dinding sel sehingga mampu melakukan difusi sel dan menarik senyawa bioaktif lebih cepat (Prayitno & Rahim, 2020). Pelarut etanol 70 % digunakan karena pelarut dengan konsentrasi ini sangat efektif dalam menghasilkan jumlah bahan aktif yang optimal, dimana bahan pengganggu hanya skala kecil yang turut kedalam cairan pengekstraksi, yang mana pelarut ini sesuai dalam mengekstrak senyawa yang mengandung flavonoid (Yulianto & Savitri, 2019).

Ekstraksi daun beluntas dilakukan dengan metode maserasi karena merupakan metode yang paling sederhana, tidak memerlukan alat khusus dibandingkan metode yang lain, dan dapat menghindari rusaknya senyawa-senyawa yang bersifat termolabil (Ibrahim *et al.*, 2016). Penetapan kadar air dilakukan untuk mengukur kandungan air yang terdapat dalam simplisia. Kadar air yang diperoleh dari daerah Margoyoso didapatkan hasil sebesar 8,16% dan dari daerah Colo didapatkan hasil sebesar 7,62%. Hasil yang diperoleh dikatakan sesuai dengan syarat mutu karena kurang dari 10%. Kadar air yang terlalu tinggi (>10%) dapat menyebabkan tumbuhnya mikroba yang akan menurunkan stabilitas pada ekstrak. Kadar air yang terlalu rendah dapat menyebabkan komposisi kimianya berubah (Depkes RI, 2000).

Pada penelitian ini kandungan kuersetin ditentukan berdasarkan metode kolorimetri dengan menggunakan $AlCl_3$. Prinsip dari metode ini adalah bahwa $AlCl_3$ membentuk kompleks korosif yang stabil dengan gugus keton C-4, kemudian dengan kumpulan hidroksil C-3 atau C-5 dari flavon dan flavonol (Azizah & Salamah, 2013). Kadar kuersetin yang diperoleh yaitu sebesar $7,310 \pm 0,005$ mg equivalen/100 mg ekstrak untuk daerah Margoyoso dan $8,240 \pm 0,809$ mg equivalen/100 mg ekstrak untuk daerah Colo. Kadar kuersetin EEDB Margoyoso dan Colo berbeda signifikan ($p < 0,05$), dimana daerah Colo lebih tinggi dari pada daerah Margoyoso. Hasil tersebut sama dengan penelitian Rubani (2020), dimana kadar yang diperoleh dari dataran rendah sebesar 5,63 ppm dan dataran tinggi sebesar 26,57 ppm. Perbedaan hasil tersebut karena berbagai faktor lingkungan seperti cahaya, suhu, pH tanah, ketinggian tempat tumbuh, kelembapan (Malinikova *et al.*, 2013).

Kadar rutin yang diperoleh yaitu sebesar $3,637 \pm 0,799$ mg equivalen/100 mg ekstrak untuk daerah Margoyoso dan $5,831 \pm 0,556$ mg equivalen/100 mg ekstrak untuk daerah Colo. Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa kadar rutin EEDB Margoyoso dan Colo berbeda signifikan ($p < 0,05$). Selain dipengaruhi oleh faktor genetik, kadar rutin juga dapat dipengaruhi oleh berbagai faktor lingkungan meliputi cahaya, suhu, jenis tanah, kondisi tanah, ketinggian tempat dan kelembapan (Hadiyanti & Pardono, 2018).

Pengukuran aktivitas anti radikal bebas dilakukan dengan metode DPPH. Keberadaan DPPH diukur menggunakan spektrofotometri UVVis dan didapatkan panjang gelombang maksimum DPPH sebesar 519 nm. Hasil ini sama dengan penelitian Wahyuni (2018), yang memperoleh panjang gelombang maksimum DPPH sebesar 517 nm. Uji aktivitas antioksidan pada penelitian ini menggunakan metode DPPH karena metode ini merupakan metode sederhana, mudah, dan cepat menentukan aktivitas antioksidan. Metode ini juga memiliki kelebihan karena DPPH adalah senyawa radikal yang stabil (H. Faisal, 2019; Setiawan et al., 2018).

Pada penelitian ini pengujian aktivitas antioksidan EEDB Margoyoso, yang memiliki nilai IC_{50} 127,811 ppm, menunjukkan perbedaan signifikan ($p < 0,05$) dengan EEDB Colo, yang memiliki nilai IC_{50} 71,561 ppm. Hasil menunjukkan bahwa daerah Margoyoso memiliki aktivitas antioksidan sedang pada EEDB karena IC_{50} kurang dari 150 ppm, sedangkan daerah Colo memiliki aktivitas antioksidan kuat sebab IC_{50} kurang dari 100 ppm.

Keterbatasan pada penelitian ini ialah tidak dilakukannya pengecekan profil tempat tumbuh (suhu & pH tanah) tanaman beluntas (*Pluchea indica* L) antara daerah Margoyoso Colo secara replikasi dalam proses pengerjaanya.

4. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan data telah dianalisis, maka dapat disimpulkan Kadar kuersetin EEDB sebesar 73,10 ppm dari daerah Margoyoso dan 82,40 ppm dari daerah Colo, sedangkan kadar rutin EEDB sebesar 36,37 ppm dari daerah Margoyoso dan 58,31 ppm dari daerah Colo. Hasil analisis kadar kuersetin dan kadar rutin EEDB daerah Margoyoso dan Colo berbeda bermakna secara statistik dengan signifikan (2-tailed) $< 0,05$. Berdasarkan nilai IC_{50} menggunakan metode DPPH, aktivitas anti radikal bebas termasuk kriteria sedang dengan nilai IC_{50} 127,811 ppm untuk daerah Margoyoso dan kriteria kuat dengan nilai IC_{50} 71,561 ppm untuk daerah Colo. Hasil analisis aktivitas anti radikal bebas Margoyoso dan Colo berbeda bermakna secara statistik dengan signifikan (2-tailed) $< 0,05$. Perbedaan hasil kadar flavonoid yang diperoleh dari dua tempat tumbuh yang berbeda dipengaruhi faktor ketinggian, pH tanah, paparan sinar matahari dan habitat di sekitarnya. Berdasarkan faktor lingkungan tumbuh, daerah Colo lebih tinggi intensitas cahayanya, lebih rendah suhunya, lebih tinggi tempat tumbuhnya dan PH tanahnya basa dibandingkan daerah Margoyoso.

DAFTAR PUSTAKA

- Afifatul Alwiyah, Y. Sri Wulan Manuhara, Dan Edy Setiti Wida Utami, A. (2015). *Pengaruh Intensitas Cahaya Terhadap Biomassa Dan Kadar Saponin Kalus Ginseng Jawa (Talinum Paniculatum Gaertn.) Pada Berbagai Waktu Kultur*. 1– 23.
- Agustina, E. (2017). Uji Aktivitas Senyawa Antioksidan Dari Ekstrak Daun Tiin (Ficus Carica Linn) Dengan Pelarut Air, Metanol Dan Campuran Metanol-Air. *Klorofil : Jurnal Ilmu Biologi Dan Terapan*, 1(1), 38–47.
- [Http://jurnal.uinsu.ac.id/index.php/klorofil/article/view/1240](http://jurnal.uinsu.ac.id/index.php/klorofil/article/view/1240)
- Ahemd, S. A. (2013). *Konstituen Fenolik Dan Aktivitas Biologis Genuspluchea*. 5(5), 109–114.
- Ahmad, A. R., Juwita, J., & Ratulangi, S. A. D. (2015). Penetapan Kadar Fenolik Dan Flavonoid Total Ekstrak Metanol Buah Dan Daun Patikala (Etlingera Elatior (Jack) R.M.Sm). *Pharmaceutical Sciences And Research*, 2(1), 1–10. <https://doi.org/10.7454/psr.v2i1.3481>
- Amin, A., Wunas, J., & Anin, Y. M. (2013). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Klika Faloak (Sterculia Quadrifida R.Br). *Fitofarmaka*, 2(2), 111–114.
- Bakti, A. A., Triyasmono, L., & Rizki, M. I. (2017a). *Penentuan Kadar Flavonoid Total Dan Uji Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Kasturi (Mangifera Casturi Kosterm.) Dengan Metode Dpph*. 04(01), 102–108.
- Bakti, A. A., Triyasmono, L., & Rizki, M. I. (2017b). Penentuan Kadar Flavonoid Total Dan Uji Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Kasturi (Mangifera Casturi Kosterm.) Dengan Metode Dpph. *Jurnal Pharmascience*, 4(1), 102–108. <https://doi.org/10.20527/jps.v4i1.5762>
- Faisal, A. P., Nasution, P. R., & Wakidi, R. F. (2022). Aktivitas Antioksidan Dari Daun Bintangur (Calophyllum Inophyllum L.) Terhadap Radikal Bebas Dpph Antioxidant Activity Of Bintangur Leaves (Calophyllum Inophyllum L.)
- Against Dpph Free Radical (1, 1. *Jurnal Riset Kefarmasian Indonesia*, 4(1). <https://doi.org/10.33759/jrki.v4i1.200>
- Faisal, H. (2019). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Buah Okra (Abelmoschus Esculentus L. Moench) Dengan Metode Dpph (1, 1- Difenil-2Pikrilhidrazil) Dan Metode Abts. *Regional Development Industry & Health Science, Technology And Art Of Life*, 2 (1), 1–5.
- Fatonah, S. Asih, D. Mulyanti, D. Iriani, D. (2013). No Title. *Biospecies*, 6(2).
- Idris, A., Linatoc, A. C., Abu Bakar, M. F., Ibrahim Takai, Z., & Audu, Y. (2018). Effect Of Light Quality And Quantity On The Accumulation Of Flavonoid In Plant Species. *Journal Of Science And Technology*, 10(3).
- <https://doi.org/10.30880/jst.2018.10.03.006>

- Ikalinus, R., Widyastuti, S., & Eka Setiasih, N. (2015). Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Kulit Batang Kelor (*Moringa Oleifera*). *Indonesia Medicus Veterinus*, 4(1), 71–79.
- Illing, I., Safitri, W., & Erfiana. (2017). Uji Fitokimia Ekstrak Buah Degen Ilmiati Illing, Wulan Safitri Dan Erfiana. *Jurnal Dinamika*, 8(1), 66–84.
- Indarto, I., Narulita, W., Anggoro, B. S., & Novitasari, A. (2019). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Binahong Terhadap *Propionibacterium Acnes*. *Biosfer: Jurnal Tadris Biologi*, 10(1), 67–78. <https://doi.org/10.24042/Biosfer.V10i1.4102>
- Karyati, Putri, R. O., & Syafrudin, M. (2018). Soil Temperature And Humidity At Post Mining Revegetation In Pt Adimitra Baratama Nusantara, East Kalimantan Province. *Agrifor*, 17(1), 103–114.
- Magfiroh, U. L. (2017). Faktor Ketinggian Tempat Terhadap Sintesis Vitamin Buah Carica (*Carica Pubescens*). *Prosiding Seminar Nasional Pendidikan Biologi Dan Biologi*, 2011, 69–74
- Noer, S., Pratiwi, R. D., & Gresinta, E. (2018). Penetapan Kadar Senyawa Fitokimia (Tanin, Saponin Dan Flavonoid) Sebagai Kuersetin Pada Ekstrak Daun Inggu (*Ruta Angustifolia L.*). *Jurnal Eksakta*, 18(1), 19–29. <https://doi.org/10.20885/Eksakta.Vol18.Iss1.Art3>
- Pavarini, D. P., Pavarini, S. P., Niehues, M., & Lopes, N. P. (2012). Exogenous Influences On Plant Secondary Metabolite Levels. *Animal Feed Science And Technology*, 176(1–4), 5–16. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2012.07.002>
- Pradipta, A. E., & Applied. (2018). *Pertumbuhan Dan Multiplikasi Tunas Adventif Bulbil Bawang Putih (Allium Sativum L.) Pada Beberapa Komposisi Zat Pengatur Tumbuh*. 1–23.
- Prahesti, D. A., Pujiyanti, S., Rukmi, I., Biologi, D., Sains, F., & Diponegoro, U. (2018). *Isolasi , Uji Aktivitas , Dan Optimasi Inhibitor A-Amilase Isolat Kapang Endofit Tanaman Binahong (Anredera Cordifolia) (Ten .) Steenis*. 7(1).
- Utami, N. F., Sutanto, Nurdayanty, S. M., & Suhendar, U. (2020). Pengaruh Berbagai Metode Ekstraksi Pada Penentuan Kadar Flavonoid Ekstrak Etanol Daun Iler (*Plectranthus Scutellarioides*). *Fitofarmaka: Jurnal Ilmiah Farmasi*, 10(1), 76–83.
- Utomo, D. S., Kristiani, E. B. E., & Mahardika, A. (2020). Pengaruh Lokasi Tumbuh Terhadap Kadar Flavonoid, Fenolik, Klorofil, Karotenoid Dan Aktivitas Antioksidan Pada Tumbuhan Pecut Kuda (*Stachytarpheta Jamaicensis*). *Bioma*, 22(2), 143–149.
- Wahyuningsih, Triyanti, M., & Sepriyaningsih, S. (2019). Inventarisasi Tumbuhan Paku (Pteridophyta) Di Perkebunan Pt Bina Sains Cemerlang Kabupaten MusiRawas. *Jurnal Biosilampari: Jurnal Biologi*, 2(1), 29–35. <https://doi.org/10.31540/Biosilampari.V2i1.815>