

Kapasitas Antioksidan, Kadar Fenolik, dan Flavonoid Total Ekstrak Air dan Etanol Kumis Kucing (*Orthosiphon aristatus*)

Antioxidant Capacity, Total Phenolic, and Flavonoid Content from Java Tea (Orthosiphon aristatus) Extracts

Penulis Zulhan Arif^{1*}, Aurentinus Zalukhu¹, Alfi Hudatul Karomah¹, Mohamad Rafi^{1,2}

Afiliasi ¹Departemen Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor, Kampus IPB Dramaga, Jl. Kamper, Babakan, Kec. Dramaga, Kabupaten Bogor, Jawa Barat 16680
²Pusat Studi Biofarmaka Tropika, Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat., Institut Pertanian Bogor, Kampus IPB Taman Kencana, Jl. Taman Kencana No.3, RT.03/RW.03, Babakan, Kecamatan Bogor Tengah, Kota Bogor, Jawa Barat 16128

Kata Kunci

- ➔ antioksidan
- ➔ fenolik
- ➔ flavonoid
- ➔ kromatografi lapis tipis
- ➔ sinensetin

Keywords

- ➔ *antioxidant*
- ➔ *phenolic*
- ➔ *flavonoid*
- ➔ *thin layer chromatography*
- ➔ *sinensetin*

Diterima 20 Juli 2022

Direvisi 29 November 2022

Disetujui 30 November 2022

*Penulis Koresponding

Zulhan Arif

email:

zulhanarif@apps.ipb.ac.id

ABSTRAK

Herbal kumis kucing berkhasiat sebagai penyembuh radang, demam, rematik, kencing manis, dan batu ginjal. Tanaman ini diketahui mengandung senyawa kelompok fenolik dan flavonoid. Penelitian ini bertujuan membandingkan profil antioksidan senyawa fenolik dan flavonoid dari batang dan daun kumis kucing yang diekstraksi menggunakan pelarut air dan etanol secara maserasi. Kisaran rendemen batang dan daun ekstrak air adalah 12.98-31.28% dan ekstrak etanol 3.58-9.82% berdasarkan bobot kering. Batang dan daun ekstrak air mengandung fenolik sebesar 7.82-26.43 (mg GAE/g) dan ekstrak etanol 2.27-7.84 (mg GAE/g). Kadar flavonoid kumis kucing ekstrak air adalah 1.23-2.86 (mg EK/g) dan ekstrak etanol 1.09-3.95 (mg EK/g). Aktivitas antioksidan (IC₅₀) ekstrak etanol dari daun 123.91 (µg/mL) dan dari batang 125.50 (µg/mL) sedangkan ekstrak air untuk daun ialah 114.70 (µg/mL) dan batang 125.03 (µg/mL). Hasil uji korelasi senyawa aktif menggunakan regresi linear adalah senyawa fenolik dengan antioksidan lebih kuat dari pada senyawa flavonoid. Hasil analisis sidik jari kromatografi lapis tipis secara kualitatif menunjukkan bahwa baik ekstrak etanol maupun ekstrak air mengandung senyawa sinensetin alami.

ABSTRACT

Orthosiphon aristatus, known as kumis kucing in Indonesia, has some biological activity, i.e., as an anti-inflammatory, fever, rheumatism, diabetes, and kidney stone. This plant is also known for being rich in phenolic compounds such as flavonoids. In this study, we would like to compare the antioxidant activity, total phenolics, and flavonoid content from the stems and leaves of *Orthosiphon aristatus* extracted with water and ethanol by maceration. The yield stem and leaves of the water extract are 12.98-31.28%, and ethanol extract 3.58 - 9.82% (dry basis). The stem and leaves water extract contains a phenolic of 7.82-26.43 (mg GAE/g) and ethanol extract of 2.27-7.84 (mg GAE/g). Water extract *Orthosiphon aristatus* flavonoid content is 1.23-2.86 (mg EK/g), and ethanol extract is 1.09-3.95 (mg EK/g). The antioxidant activity of ethanol (IC₅₀), extract from leaves was 123.91 (µg/mL) and from stems was 125.50 (µg/mL), while IC₅₀ of water extract from leaves was 114.70 (µg/mL) and from stems was 125.03 (µg/mL). The correlation test result of active compounds using linear regression is phenolic compounds with antioxidants stronger than flavonoids. The qualitative thin-layer chromatography fingerprint analysis showed that ethanol and water extract contained natural sinensetin compounds.



PENDAHULUAN

Kumis kucing (*Orthosiphon aristatus*) merupakan salah satu tumbuhan obat yang sudah lama digunakan dalam pengobatan tradisional di Indonesia (Batubara *et al.* 2020). Tumbuhan ini berkhasiat sebagai obat tekanan darah tinggi, sakit kuning, diabetes, penyakit ginjal, rematik, dan mempunyai efek antelmintik (Ulya *et al.* 2014; Juliani *et al.* 2016). Kumis kucing memiliki kandungan senyawa kimia yang termasuk ke dalam golongan monoterpena, diterpena, triterpena, saponin, fenolik, seperti flavonoid serta asam fenolat. (Rafi *et al.* 2021). Fenolik dan flavonoid merupakan golongan senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan dan berkaitan dengan kandungan senyawa kimia pada kumis kucing, yaitu sinensetin, eupatorin, 3'-hidroksi-5,6,7,4' tetrametoksiflavan, dan asam rosmarinat (Abdullah *et al.* 2020).

Komposisi senyawa kimia terekstrak dari suatu tanaman dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor, salah satunya bagian tumbuhan yang diekstraksi. Perbedaan bagian tumbuhan yang diekstraksi akan mempengaruhi aktivitas biologis yang ditimbulkan, karena setiap bagian tumbuhan memiliki kandungan senyawa kimia yang berbeda. Chua *et al.* (2018) telah melaporkan kandungan senyawa kimia dan aktivitas antioksidan yang terkandung dalam daun dan batang kumis kucing, akan tetapi penelitian tersebut hanya terbatas pada satu jenis pelarut pengekstraksi saja. Parameter ekstraksi seperti polaritas pelarut juga berpengaruh pada jumlah senyawa yang terekstraksi. Hal ini disebabkan adanya perbedaan karakteristik dan polaritas dari setiap senyawa kimia (Kamarudin *et al.* 2016).

Pada penelitian ini pengecekan komposisi senyawa kimia pada bagian tumbuhan maupun pelarut pengekstraksi yang berbeda untuk mengetahui profil senyawa kimia di dalam suatu tumbuhan. Pemilihan bagian daun batang didasarkan pada fakta bahwa senyawa metabolit sekunder pada tanaman dapat menyebar dengan persebaran yang berbeda di setiap bagian tanaman. Ekstrak yang dihasilkan dari batang dan daun perlu dilakukan penentuan profil kimia secara kualitatif menggunakan kromatografi lapis tipis. Selanjutnya ekstrak daun dan batang dari pelarut yang berbeda ditentukan aktivitas antioksidan dan korelasi aktivitas antioksidan dari flavonoid fenol dari ekstrak daun dan batang kumis kucing.

METODE

Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu peralatan gelas, penguap berputar R-114 (Büchi, Flawil, Swiss), *microplate reader* Epoch (Biotek, Winooski, Amerika Serikat), Seperangkat peralatan kromatografi lapis tipis (KLT) yang terdiri atas *automatic sampler* Linomat 5, Reprostar 3, *twin-through chamber*, dan peranti lunak WinCATS (CAMAG, Muttez, Swiss).

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu kumis kucing (bagian batang dan daun) yang diperoleh dari Kebun Percobaan Pusat Studi Biofarmaka Tropika (TropBRC), LPPM IPB, Bogor. Identifikasi tumbuhan dan voucher spesimen disimpan di TropBRC, LPPM IPB, Bogor. Etanol absolut, pereaksi *Folin-Ciocalteu*, Na_2CO_3 , $\text{AlCl}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$, $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, kloroform, *n*-heksana, diklorometana, etil asetat, polietilena glikol 400 (macrogol), dan asam difenilboronat amino etil ester diperoleh dari Merck (Darmstadt, Jerman). Sedangkan untuk DPPH, troloks, dan asam galat (98.7% dengan KCKT) berasal dari Sigma-Aldrich (Steinheim, Jerman). Kalium asetat dibeli dari Wako Pure Chemical Industries (Osaka, Jepang), kuersetin hidrat berasal dari Tokyo Chemical Industry (Tokyo, Jepang), dan sinensetin (98.7% dengan KCKT) diperoleh dari ChromaDex Inc. (Santa Ana, Amerika Serikat).

Penyiapan Dan Ekstraksi Sampel

Batang dan daun kumis kucing dikeringkan di dalam oven lampu menggunakan suhu sekitar 50 °C selama 7 hari. Sampel yang sudah kering tersebut kemudian digiling hingga menjadi serbuk dengan ukuran 40 mesh. Ekstraksi sampel dilakukan menggunakan pelarut air dan etanol absolut menggunakan prosedur yang dikembangkan oleh Roy *et al.* (2014) yang telah dimodifikasi. Ekstraksi dilakukan menggunakan metode yang diadaptasi dari Lezoul *et al.* (2020). Sebanyak 30 g serbuk batang dan daun kumis kucing ditambahkan pelarut dengan nisbah 1:10. Cara maserasi digunakan dalam mengekstrak sampel dengan waktu 24 jam dan diaduk setiap 6 jam. Maserat dipisahkan dari pelarutnya dengan cara filtrasi. Proses ekstraksi diulang sebanyak 3 kali dengan jumlah pelarut dan waktu yang sama. Selanjutnya, filtrat yang telah dikumpulkan dihilangkan pelarutnya menggunakan penguap berputar pada suhu 60 °C untuk ekstrak air dan 40 °C untuk ekstrak etanol hingga diperoleh ekstrak kasar kering.



Penentuan Kadar Fenolik Total

Penentuan kadar fenolik total dilakukan dengan menggunakan prosedur yang digunakan oleh Sanchez-rangel *et al.* (2013) dengan modifikasi. Sebanyak 10 μL larutan ekstrak, 160 μL akuades, 10 μL pereaksi Folin-Ciocalteu 10%, dan 20 μL larutan Na_2CO_3 7.5% ditambahkan ke dalam pelat tetes 96 sumur. Campuran dihomogenkan dan diinkubasi selama 30 menit. Absorbans diukur pada panjang gelombang 750 nm menggunakan *microplate reader*. Kadar fenolik total dihitung berdasarkan kurva kalibrasi larutan standar asam galat dan dinyatakan sebagai jumlah ekuivalen asam galat dalam gram ekstrak kering (mg GAE/g ekstrak kering). Pengukuran dilakukan sebanyak tiga kali pengulangan.

Penentuan Kadar Flavonoid Total

Penentuan kadar flavonoid total ditentukan menggunakan metode kolorimetrik aluminium klorida dengan kuersetin sebagai senyawa standar mengikuti prosedur yang digunakan Csepregi *et al.* (2013) dan Shraim *et al.* (2021) tentang penentuan total flavonoid. Sebanyak 10 μL ekstrak sampel, 60 μL etanol, 10 μL AlCl_3 10%, 10 μL kalium asetat 1 M dan 120 μL akuades dipindahkan ke dalam pelat tetes 96 sumur. Campuran dihomogenkan dan diinkubasi selama 30 menit. Absorbans larutan diukur pada panjang gelombang 415 nm menggunakan *microplate reader*. Kadar flavonoid total ditunjukkan sebagai jumlah ekuivalen kuersetin dalam gram ekstrak kering (EK/g ekstrak kering). Pengukuran dilakukan sebanyak tiga kali ulangan.

Penentuan Kapasitas Antioksidan

Penentuan aktivitas antioksidan dengan metode DPPH mengikuti prosedur yang dijelaskan oleh Farhan *et al.* (2012) dan Juliani *et al.* (2016) Sampel ekstrak yang diuji adalah ekstrak air dan ekstrak etanol batang dan daun kumis kucing. Sebanyak 100 μL larutan DPPH 125 $\mu\text{mol/L}$ dimasukkan ke dalam pelat 96 sumur yang didalamnya telah terdapat 100 μL ekstrak sampel. Larutan diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruang. Absorbans larutan diukur pada panjang gelombang 517 nm menggunakan *multi-well plate reader*. Kontrol positif yang digunakan adalah troloks dengan konsentrasi 10, 5, 2.5, 1.25, dan 0.625 ($\mu\text{g/mL}$). Pengukuran dilakukan sebanyak tiga kali ulangan.

Sidik Jari Kromatografi Lapis Tipis

Analisis sidik jari kromatografi dilakukan melalui 4 tahapan yaitu preparasi sampel, larutan standar, larutan pendeteksi dan analisis KLT sampel dan

standar mengikuti prosedur yang dikembangkan oleh Septaningsih *et al.* (2017). Untuk preparasi sampel, sebanyak 0.5 gram ekstrak sampel yang ditambahkan 10 mL metanol dan disonikasi selama 30 menit. Selanjutnya campuran disaring dan filtrat digunakan sebagai larutan uji. Larutan standar sinensetin dibuat dengan konsentrasi 200 $\mu\text{g/mL}$ dalam metanol. Preparasi larutan pendeteksi dilakukan dengan membuat larutan pendeteksi A dibuat dengan melarutkan 0.1 gram asam difenilboronat amino etil ester dalam 20 mL etil asetat. Larutan pendeteksi B dibuat dengan melarutkan 1 gram Polietilena glikol 400 (macrogol) dengan 20 mL diklorometana.

Uji KLT menggunakan metode yang dijelaskan oleh Septaningsih *et al.* (2017). Pelat KLT yang digunakan yaitu silika gel 60 F254. Ekstrak air dan etanol kumis kucing serta sinensetin diaplikasikan pada pelat KLT dalam bentuk pita dengan lebar 8 mm, jarak antar pita 4 mm, 10 mm dari sisi bawah, dan 10 mm dari sisi kiri dan kanan pelat. Volume larutan standar sinensetin dan ekstrak sampel yang diaplikasikan sebanyak 15 μL dan 3 μL . Bejana kromatografi yang digunakan yaitu *twin-trough chamber* dengan waktu penjuanan fase gerak 30 menit. Fase gerak yang digunakan yaitu kloroform, *n*-heksana, dan etil asetat dengan perbandingan 1:2:2 dan jarak pengembangan 80 mm dari posisi aplikasi sampel. Setelah elusi, pelat diangkat dari bejana kromatografi dan dipanaskan di dalam oven dengan suhu 105 $^{\circ}\text{C}$ selama 3 menit. Setelah itu, pelat dicelupkan ke dalam larutan pendeteksi A dan dikeringkan dalam suhu kamar. Setelah kering pelat dicelupkan pada larutan pendeteksi B. Selanjutnya hasil derivatisasi deteksi didokumentasikan dibawah lampu UV 254 dan 366 nm.

Analisis Data

Hasil penelitian diolah untuk melihat korelasi kadar fenol, flavonoid, dengan aktivitas antioksidan pada batang dan daun kumis kucing menggunakan analisis regresi. Data yang diperoleh dinyatakan sebagai nilai rerata \pm simpangan baku (SD) dari tiga ulangan. Analisis statistik yang digunakan adalah analisis varians (ANOVA *one-way*) menggunakan perangkat lunak XL STAT versi 2019.4.1 (Addinsoft, New York, Amerika Serikat) dengan nilai beda nyata sebesar 0.05. Untuk diagram alir penelitian bisa dilihat di **Gambar 1**.





Gambar 1 Diagram Alir Penelitian

HASIL & PEMBAHASAN

Ekstraksi dan Rendemen Ekstrak Kumis Kucing

Proses ekstraksi senyawa aktif bahan alam menggunakan pelarut melalui tahapan-tahapan yaitu masuknya pelarut masuk ke dalam matriks sampel padatan, senyawa analit terlarut ke dalam pelarut, analit keluar bersama-sama dengan pelarut secara perlahan-lahan, dan ekstrak analit terkumpul dan siap untuk diproses untuk tahap selanjutnya (Zhang *et al.* 2018). Proses ekstraksi dilakukan dengan menggunakan pelarut etanol dan air. Menurut (Abubakar & Haque 2020) etanol diketahui merupakan pelarut universal untuk ekstraksi senyawa aktif bahan alam, bersifat polar, dapat larut dengan air, merupakan pengawet alami bila konsentrasi >20%, tidak beracun pada konsentrasi rendah, dapat melarutkan dengan baik bila terkena panas, dan perlu sedikit panas untuk menguapkan pelarut. Kekurangan alkohol adalah sifat yang mudah terbakar, mudah menguap, dan tidak melarutkan lemak serta gum. Air merupakan pelarut yang sangat aman karena tidak beracun, murah, tidak terbakar, dan bersifat sangat polar. Kekurangan pelarut air adalah berpotensi meningkatkan pertumbuhan jamur dan bakteri, menyebabkan terjadinya hidrolisis, dan perlu energi yang besar untuk menguapkan. Rafi *et al.* (2015) menjelaskan penggunaan etanol sebagai pengeskrak untuk kumis kucing juga sesuai dengan petunjuk dari Monografi Ekstrak Tumbuhan Obat

Indonesia Volume I dari segi kepolaran dan dari segi kesesuaian kelarutan.

Sebelum proses ekstraksi dilakukan sampel diubah menjadi serbuk halus dengan ukuran 40 mesh. Pengubahan sampel menjadi ukuran yang serbuk diharapkan meningkatkan kontak antara pelarut dengan bahan sehingga akan meningkatkan efisiensi ekstraksi. Pengubahan ukuran dilakukan jangan sampai menjadi partikel yang sangat halus karena akan meningkatkan absorpsi pelarut ke dalam analat dan akan menyulitkan dalam proses penyaringan (Zhang *et al.* 2018). Terdapat beberapa cara untuk proses ekstraksi senyawa aktif seperti sokletasi, refluks, dan maserasi. Cara maserasi dipilih untuk mengekstrak senyawa kimia batang dan daun kumis kucing karena dengan menggunakan cara ekstraksi ini akan terhindarkan dari rusaknya senyawa kimia yang tidak tahan panas pada sampel (Puspitasari & Prayogo 2017). Ekstrak kasar yang diperoleh memiliki nilai rendemen yang berbeda bila dibandingkan berdasarkan pilihan pelarut yang digunakan. Rendemen dari pelarut air memiliki nilai yang lebih tinggi dibandingkan ekstrak etanol (**Tabel 1**). Air merupakan pelarut yang lebih polar dibandingkan dengan etanol. Senyawa-senyawa yang bersifat polar dari tanaman akan terekstraksi ke dalam pelarut air, sesuai dengan penjelasan Abubakar & Haque (2020). Perbedaan nilai rendemen ini disebabkan karena sifat senyawa yang terekstrak berbeda akibat perbedaan kepolaran pelarut yang digunakan. Kepolaran pelarut akan sangat menentukan efisiensi, karena prinsip ekstraksi yang digunakan yaitu *like dissolve like*, artinya senyawa yang bersifat polar lebih banyak terkandung dalam pelarut yang lebih polar. Senyawa aktif dalam kumis kucing merupakan senyawa yang bersifat semi-polar sampai polar sehingga penggunaan pelarut etanol atau air sesuai (Faramayuda *et al.* 2021). Kekuatan dan kepolaran pelarut akan sangat berpengaruh terhadap efisiensi ekstraksi terutama terhadap senyawa aktif yang akan tertransfer ke dalam pelarut. Air merupakan pelarut yang lebih polar dibandingkan dengan etanol. Beberapa keadaan menjadikan air sebagai pelarut yang lebih sesuai dibandingkan dengan etanol (Azwanida 2015).

Tabel 1. Rendemen Batang dan Daun Kumis Kucing

Jenis Sampel	Rendemen (%) \pm SD
Batang ekstrak air	13.91 \pm 0.80
Batang ekstrak etanol	3.60 \pm 0.02
Daun ekstrak air	27.76 \pm 3.16
Daun ekstrak etanol	9.27 \pm 0.57



Kadar Fenolik dan Flavonoid Total Ekstrak Kumis Kucing

Senyawa fenolik dalam bentuk senyawa polifenol dapat berupa flavonoid, antosianin, dan tanin. Senyawa ini merupakan golongan metabolit sekunder yang bertanggung jawab terhadap antioksidan, antikanker, antiviral, dan antiinflamasi. Analisis kadar total fenol pada penelitian ini dilakukan dengan metode Folin-Ciocalteu. Prinsip metode ini, yaitu terjadinya reaksi oksidasi senyawa fenolik dalam suasana basa oleh pereaksi Folin-Ciocalteu, sehingga menghasilkan kompleks molibdenum-tungsten berwarna biru dengan intensitas warna sebanding dengan senyawa fenolik. Serapan intensitas tersebut dapat diukur pada panjang gelombang 750 nm. Kadar fenol total dihitung sebagai jumlah ekuivalen asam galat. Asam galat digunakan karena turunan dari asam hidroksibenzoat yang tergolong asam fenol sederhana, stabil, dan murni (Sanchez-Rangel *et al.* 2013). Kadar flavonoid total dapat ditentukan secara spektrofotometri dengan pereaksi $AlCl_3$. Prinsip analisis kuantitatif flavonoid total metode $AlCl_3$ adalah terjadinya pembentukan kompleks antara aluminium klorida dan gugus hidroksi keton dan orto hidroksi yang bertetangga dari golongan flavon dan flavonol (Csepregi *et al.* 2013). Kadar flavonoid dihitung sebagai jumlah ekivalen kuersetin. Kuersetin merupakan senyawa flavonoid kelompok flavonol yang memiliki respon kedua terbesar pada panjang gelombang 415 nm dengan metode $AlCl_3$.

Hasil penentuan nilai kadar fenolik dan flavonoid total pada batang dan daun kumis kucing ditunjukkan pada **Tabel 2**. Berdasarkan data yang dihasilkan ekstrak daun memiliki kadar fenol total lebih tinggi dari pada batang. Selain itu, pelarut air juga memiliki kadar fenol total yang lebih tinggi dari etanol dikarenakan etanol bersifat polar dan lebih mudah menguap. Akan tetapi meskipun kadar total fenol yang diperoleh tinggi tidak selalu menghasilkan kadar total flavonoid tinggi juga. Hal tersebut menunjukkan tingginya kandungan fenol

tidak hanya dipengaruhi oleh flavonoid. Hal ini dikarenakan aluminium (III) akan bereaksi dengan gugus dihidroksi atau hidroksi keton yang bertetangga, semakin banyak gugus tersebut dalam sampel maka semakin banyak kelat yang terbentuk, sehingga absorbans semakin tinggi. Selain itu, dapat disebabkan oleh kodrat kimia dari metode yang digunakan yaitu flavonoid dengan menggunakan $AlCl_3$ sebagai pereaksi pewarna yang hanya bereaksi dengan senyawa flavon dan flavonol sedangkan senyawa kelas lain seperti flavonon dan flavononol tidak bereaksi. Penelitian ini menghasilkan kadar fenol dan flavonoid total yang berbeda dengan penelitian sebelumnya. Penelitian sebelumnya menghasilkan kadar fenol total untuk tanaman kumis kucing dalam bentuk simplisia sebesar 18.75 GAE/g ekstrak untuk ekstrak air (Halim *et al.* 2017) dan 24.53 GAE/g ekstrak untuk ekstrak etanol 70 % (Rafi *et al.* 2012), sedangkan untuk kadar flavonoid total sebesar 3.36 EK/g ekstrak untuk ekstrak air (Halim *et al.* 2017) dan 0.66 EK/g ekstrak untuk ekstrak etanol 70 % (Rafi *et al.* 2012). Farhan *et al.* (2012) meneliti kandungan fenol pada batang dan daun kumis kucing, hasil penelitian disebutkan bahwa daun mempunyai kadar fenol lebih tinggi dari bagian batang dan akar menggunakan bila diekstraksi menggunakan pelarut metanol, sebesar 230 GAE/g untuk daun dan 130 GAE/g ekstrak untuk batang. Kamarudin *et al.* (2016) mengesktraksi kumis kucing dengan menggunakan maserasi pelarut air, etanol, dan etanol (50%v/v) dari daun kumis kucing menunjukkan nilai total fenol dari pelarut air, etanol, dan etanol 50%v/v sebesar 2.52, 2.43, dan 5.15 GAE/g ekstrak.

Hasil analisis dengan menggunakan ANOVA *one-way* diperoleh bahwa F_{hitung} lebih besar dari F_{tabel} , sedangkan nilai signifikan keduanya kurang dari $p > 0.05$. Hasil tersebut menunjukkan bahwa terdapat perbedaan hasil kadar fenol dan flavonoid total setelah diberi 4 perlakuan yang berbeda (H_0 ditolak dan H_1 diterima). Adanya senyawa polifenol dapat berpotensi sebagai

Tabel 2. Kadar Fenolik dan Flavonoid Total Kumis Kucing

Jenis Sampel	Kadar Fenolik Total (mg GAE/g) \pm SD ^(*)	Kadar Flavonoid Total (mg EK/g) \pm SD ^(*)
Batang ekstrak air	7.82 \pm 0.14 ^a	1.23 \pm 0.39 ^a
Batang ekstrak etanol	2.27 \pm 0.05 ^b	1.09 \pm 0.17 ^a
Daun ekstrak air	26.43 \pm 1.46 ^c	2.86 \pm 0.10 ^b
Daun ekstrak etanol	7.84 \pm 0.72 ^a	3.95 \pm 0.83 ^b

Keterangan:

(*) rerata \pm standar deviasi dari 3 kali ulangan sampel batang atau daun kumis kucing.

Data yang ditandai dengan huruf yang berbeda menandakan perbedaan signifikan pada $p < 0.05$



antioksidan karena mampu menyumbangkan ion H^+ atau elektron pada senyawa radikal bebas. Tingginya kandungan polifenol dalam suatu ekstrak akan berpengaruh terhadap aktivitas antioksidan (Farhan *et al.* 2012; Kamarudin *et al.* 2016). Daun kumis kucing memiliki kadar fenol dan flavonoid total yang lebih tinggi dari pada batang, demikian juga untuk kadar flavonoid pada daun lebih tinggi daripada batang baik untuk ekstrak etanol ataupun ekstrak air. Oleh sebab itu, adanya fenol dan flavonoid pada batang atau daun kumis kucing akan berpotensi sebagai antioksidan.

Kapasitas Antioksidan Ekstrak Kumis Kucing

Metode yang digunakan dalam pengujian aktivitas antioksidan adalah metode penangkapan radikal DPPH (1,1-difenil-2- pikrilhidrazil) yang dinyatakan dalam bentuk IC_{50} . Penentuan IC_{50} pada penelitian ini menggunakan standar troloks karena memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi serta terdapat gugus karbonil yang dapat memberikan kelarutan dalam air. Troloks memiliki aktivitas antioksidan lebih tinggi dibandingkan dengan hidroksitoulena berbutil (BHT), hidroksianisola berbutil (BHA), dan α -tokoferol. Konsentrasi IC_{50} troloks yang digunakan sebagai kontrol positif sebesar 18.98 $\mu\text{g/mL}$. Hasil nilai IC_{50} ekstrak air dan etanol batang dan daun kumis kucing ditunjukkan pada **Tabel 3**.

Berdasarkan data yang diperoleh ekstrak air menghasilkan IC_{50} yang lebih rendah dibandingkan ekstrak etanol baik pada daun maupun batang. Hal ini menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan yang terkandung dalam ekstrak air lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak etanol. Perbedaan polaritas pelarut ekstraksi dapat menjadi salah satu penyebab perbedaan aktivitas antioksidan yang diperoleh pada penelitian ini. Akan tetapi, hasil uji ANOVA *one-way* menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan signifikan antara perlakuan dan aktivitas antioksidan, karena nilai F_{hitung} lebih kecil dari F_{tabel} dengan nilai signifikan lebih besar dari 0.05, sehingga H_0 diterima.

Tabel 3. Aktivitas Antioksidan Batang dan Daun Kumis Kucing

Jenis Sampel	IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$) \pm SD ^(o)
Batang ekstrak air	125.03 \pm 7.24
Batang ekstrak etanol	125.50 \pm 17.30
Daun ekstrak air	114.70 \pm 10.96
Daun ekstrak etanol	123.91 \pm 13.11

Korelasi Fitokimia dengan Kapasitas Antioksidan

Aktivitas antioksidan kumis kucing ditentukan oleh kadar senyawa aktif yang terkandung didalamnya seperti fenolik. Semakin tinggi kadar fenolik dalam kumis kucing maka aktivitas antioksidan juga semakin tinggi. Penentuan kontribusi senyawa aktif tersebut dapat dilakukan dengan melihat nilai korelasi (r) antara senyawa aktif dengan aktivitas antioksidan menggunakan regresi linier. Nilai korelasi dapat ditentukan dengan persamaan garis dengan sumbu X sebagai kadar senyawa fitokimia sedangkan sumbu Y sebagai aktivitas antioksidan. Senyawa yang akan diuji korelasinya dengan aktivitas antioksidan, yaitu fenol dan flavonoid.

Korelasi kadar fenol dan flavonoid total terhadap aktivitas antioksidan yang terukur memberikan nilai koefisien korelasi sebesar 0.9841 untuk fenol total dan 0.4 untuk flavonoid total (**Tabel 4**). Hasil tersebut menunjukkan bahwa kadar fenolik berperan tinggi dalam menentukan aktivitas antioksidan dibandingkan dengan kadar flavonoid yang memiliki korelasi rendah. Meskipun demikian, aktivitas antioksidan juga tidak hanya dipengaruhi oleh total fenol dan flavonoid. Aktivitas antioksidan dapat juga dipengaruhi oleh senyawa lain seperti triterpena pentasiklik, vitamin C, zat warna seperti klorofil, senyawaan sulfur, ataupun nitrogen (Tung *et al.* 2022). Selain terkait dengan kemampuan antioksidan, tingginya kadar fenol dan flavonoid lebih jauh bisa mempengaruhi kemampuan antimutagenetik dari suatu ekstrak. Ekstrak dengan

Tabel 4. Korelasi Senyawa Fitokimia dengan Aktivitas Antioksidan

Senyawa Fitokimia	Y	R^2	r
Fenol total	- 0.4755x + 125.56	0.9685	0.9841
Flavonoid total	-1.4902x + 125.69	0.16	0.4

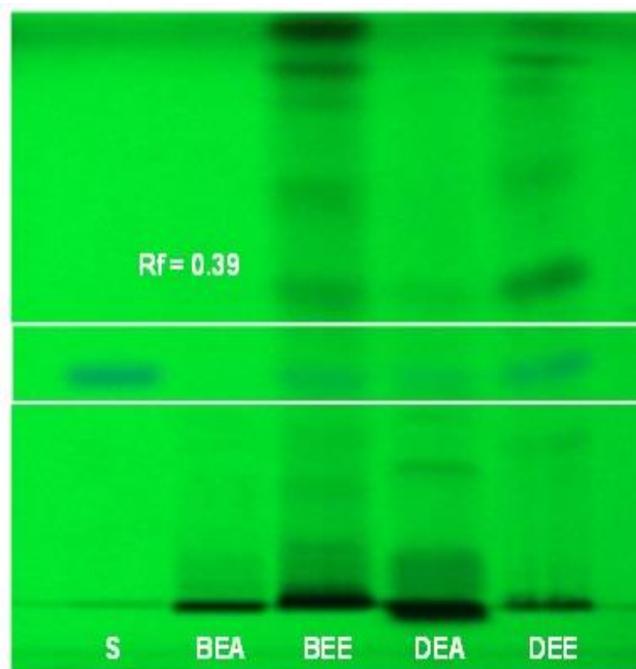


kadar fenol dan flavonoid tinggi mampu memberikan perlindungan yang baik terhadap agen mutagenetik dengan cara menangkap radikal bebas dan hidrogen peroksida (Al-Dulaimi *et al.* 2022; Samidurai *et al.* 2019).

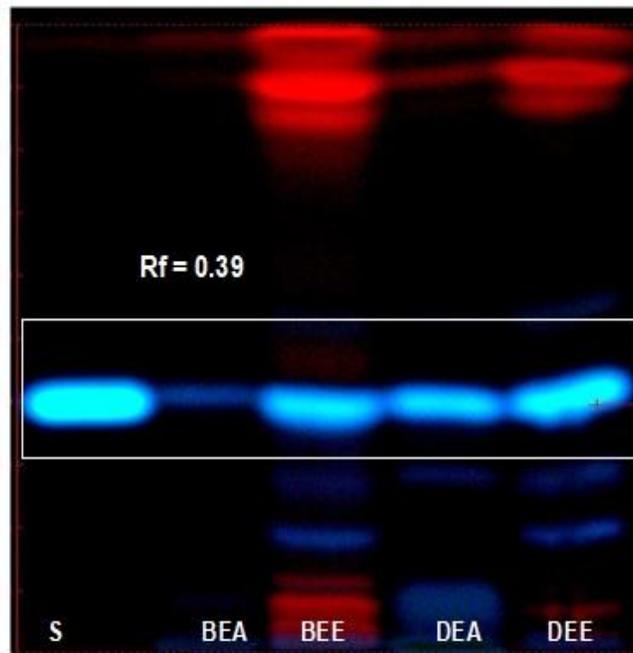
Sidik Jari KLT Ekstrak Kumis Kucing

Kromatografi lapis tipis merupakan metode kendali mutu tanaman obat yang menghasilkan sidik jari khas dari tanaman. Metode ini memiliki beberapa keuntungan, seperti sederhana, cepat, sensitif, dan preparasi sampel mudah. Metode sidik jari merupakan metode cepat, sehingga penggunaannya terbatas pada analisis cepat (Septaningsih *et al.* 2017). Penelitian

Faramayuda *et al.* (2022) KLT untuk memantau kadar sinensetin dari kumis kucing. Hasil pemantauan kadar sinensetin mampu membedakan kadar sinensetin dari dua varian kumis kucing yang digunakan. KLT sidik jari merupakan metode yang dapat digunakan untuk mengidentifikasi adanya senyawa aktif pada tanaman kumis kucing. Salah satu senyawa aktif (*marker*) yang terkandung dalam kumis kucing adalah sinensetin. Penentuan senyawa aktif ini dilakukan menggunakan standar sinensetin sebagai pembanding yang akan menghasilkan warna biru di bawah UV 254 nm dan warna biru cerah pada UV 366 nm (Septaningsih *et al.* 2017).



Gambar 2. Sidik Jari KLT Ekstrak Air dan Etanol Kumis Kucing Pada Sinar UV 254 nm (S=Standar sinensetin, BEA = Batang ekstrak Air, BEE = Batang ekstrak etanol, DEA = Daun ekstrak air, DEE = Daun ekstrak etanol).



Gambar 3. Sidik jari KLT ekstrak air dan etanol kumis kucing pada sinar UV 366 nm (S=Standar sinensetin, BEA = Batang ekstrak Air, BEE = Batang ekstrak etanol, DEA = Daun ekstrak air, DEE = Daun ekstrak etanol).

Hasil analisis sidik jari kromatografi lapis tipis menunjukkan nilai R_f standar sinensetin dan sampel pada ekstrak air dan ekstrak etanol sebesar 0.39 (**Gambar 2 dan Gambar 3**). Adanya nilai R_f yang sama dengan standar sinensetin dan pola pita yang sama menunjukkan bahwa baik ekstrak air maupun etanol dari batang dan daun kumis kucing mengandung senyawa sinensetin alami. Pemisahan kandungan senyawa aktif dalam kumis kucing secara kualitatif juga menunjukkan hasil yang tidak berbeda dari standar sinensetin. Selain itu, pita dan warna standar yang dihasilkan juga menunjukkan kemiripan dengan pita sampel. Metode kromatografi lapis tipis sidik jari merupakan metode yang relatif murah, sederhana, dan mampu digunakan untuk beberapa sampel sekaligus untuk senyawaan bahan alam atau contoh makanan. Khartika dan Paulsamy (2015) mencoba menggunakan metode sidik jari kromatografi lapis tipis untuk sampel tanaman *Solena amplexicaulis* yang diekstraksi menggunakan metanol dari bagian batang menunjukkan kemampuan teknik sidik jari kromatografi lapis tipis dalam membedakan berbagai senyawa metabolit sekunder dari ekstrak yang digunakan. Pemisahan dapat membedakan dengan relatif baik senyawa-senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam batang tanaman contoh. Opsenica *et al.* (2016) mencoba menganalisis senyawa fenol dari berbagai sumber bahan propolis dengan menggunakan

kromatografi lapis tipis sidik jari dari berbagai wilayah Eropa Timur dengan hasil yang cukup menjanjikan dan berpotensi untuk digunakan sebagai analisis pendahuluan. Kelemahan dari sistem yang digunakan adalah adanya keragaman hasil analisis yang disebabkan oleh keragaman karakter asal dan faktor lingkungan asal sampel yang digunakan, seperti umur, jenis populasi, dan faktor lingkungan asal sampel. Analisis ini juga harus didukung dengan analisis pembandingan lain seperti kromatografi cair kinerja tinggi yang di tandem dengan spektrometri massa.

Penelitian ini mampu menunjukkan nilai optimal kadar senyawa metabolit sekunder yang berperan dalam kemampuan antioksidan yaitu flavonoid dan senyawa fenolik berdasarkan bagian asal tanaman dan korelasi kemampuan antioksidan senyawa yang didapatkan dari bagian tanaman yaitu batang dan daun. Metabolit yang diekstrak dari daun mempunyai aktivitas yang lebih tinggi dari yang berasal dari batang. Potensi herba kumis kucing yang luas dapat dimanfaatkan baik dari batang atau dari daun atau campurannya. Faktor terkait dengan asal usul atau umur dari tanaman selanjutnya dapat digunakan sebagai faktor yang diteliti untuk menunjukkan kemampuan aktioksidan yang didapatkan dari kumis kucing.



SIMPULAN

Berdasarkan data yang dihasilkan, ekstrak daun kumis kucing mengandung kadar fenolik, flavonoid, serta aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan ekstrak batang baik menggunakan pelarut air maupun etanol. Hasil uji korelasi menggunakan regresi linear menyatakan bahwa fenolik total memiliki korelasi yang lebih tinggi terhadap antioksidan dibandingkan dengan flavonoid total. Hasil analisis sidik jari kromatografi lapis tipis secara kualitatif menunjukkan bahwa baik ekstrak etanol maupun ekstrak air mengandung senyawa sinensetin alami.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih diberikan kepada Pusat Studi Biofarmaka Tropika LPPM IPB (TropBRC LPPM IPB) atas sampel kumis kucing, identifikasi sampel, dan fasilitas untuk proses penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah FI, Chua LS, Bohari SPM, Sari E. 2020. Rationale of *Orthosiphon aristatus* for healing diabetic foot ulcer. *Nat. Prod. Commun.* 15(9): 1-13. Doi: 10.1177/1934578X20953308.
- Al-Dulaimi DW, Shah AMA, Baharetha MH, Ahamed MBK, Faisal SF, Al Zazour RH, Ein OC, Majid AAMS, Hassan ALE. 2022. Anticlastogenic, antimutagenic, and cytoprotective properties of *Orthosiphon stamineus* ethanolic leaves extract. *Drug. Chem. Toxicol.* 45(2):641-650. doi: 10.1080/01480545.2020.1749652.
- Abubakar AR, Haque, M. 2020. Preparation of medicinal plants: Basic extraction and fractionation procedures for experimental purposes. *J. Pharm. Bioall. Sci.* 12: 1-10. Doi: 10.4103/jpbs.JPBS_175_19.
- Azwanida NN. 2015. A Review on the extraction methods use in medicinal plants, principle, strength, and limitation. *Med. Aromat. Plants.* 4(3): 196. Doi: 10.4172/2167-0412.1000196.
- Batubara I, Komariah, Sandrawati A, Nurcholis W. 2020. Genotype selection for phytochemical content and pharmacological activities in ethanol extracts of fifteen types of *Orthosiphon aristatus* (Blume) Miq. leaves using chemometric analysis. *Sci. Rep.* 10: 20945. Doi: 10.1038/s41598-020-77991-2.
- Chua LS, Lau CH, Chew CY, Ismail NIM, Soontorngun N. 2018. Phytochemical profile of *Orthosiphon aristatus* extracts after storage: Rosmarinic acid and other caffeic acid derivatives. *Phytomed.* 39: 49-55. Doi: 10.1016/j.phymed.2017.12.015.
- Csepregi K, Kocsis M, Hideg E. 2013. On the spectrophotometric determination of total phenolic and flavonoid contents. *Acta. Biol. Hunga.* 64(4): 500-509. Doi: 10.1556/ABiol.64.2013.4.10.
- Faramayuda F, Mariani TS, Elfahmi, Sukrasno. 2021. Identification of secondary metabolites from callus *orthosiphon aristatus* (blume) miq by thin layer chromatography. *Sarhad J. Agric.* 37(3): 1081-1088. Doi: 10.17582/journal.sja/2021/37.3.1081.1088.
- Faramayuda F, Mariani TS, Elfahmi, Sukrasno. 2022. Sinensetin Contents of Purple and White Purple Variety of *Orthosiphon aristatus* (Blume) Miq. *Jordan. J. Biol. Sci.* 15(1): 127-132. Doi: 10.54319/jjbs/150117.
- Farhan M, Razak SA, Pin KY, Chuah AL, 2012. Antioxidant activity and phenolic content of different parts of *Orthosiphon stamineus* grown under different light intensities. *J. Trop. For. Sci.* 24(2): 173-177.
- Halim NH, Pauzi N, Hamil SHR, Shafaei A, Ismail Z, Mohd KS. 2017. Standardization of *Orthosiphon stamineus* raw material and extracts for antiuterine fibroid. *Int. J. Pharmacogn. Phytochem.* 9(4): 512-515.
- Juliani, Yuliana ND, Budijanto S, Wijaya CH, Khatib A. 2016. Senyawa inhibitor α -glukosidase dan antioksidan dari kumis kucing dengan pendekatan metabolomik berbasis FTIR. *J. Teknol. Ind. Pangan.* 27(1): 17-30. Doi: 10.6066/jtip.2016.27.1.17.
- Kamarudin NA, Markom M, Latip J. 2016. Effects of Solvents and Extraction Methods on Herbal Plants *Phyllanthus niruri*, *Orthosiphon stamineus* and *Labisia pumila*. *Indian. J. Sci. Technol.* 9(21): 1-5. Doi: 10.17485/ijst/2016/v9i21/95235.
- Khartika K, Paulsamy S. 2015. TLC and HPTLC fingerprints of various secondary metabolites in the stem of the traditional medicinal climber, *Solena amplexicaulis*. *Indian J Pharm Sci* 77(1):111-116.
- Lee SH, Sancheti SA, Bafna, MR, Sancheti SS, Seo SY. 2011. Acetylcholinesterase inhibitory and antioxidant properties of *Rhododendron yedoense* var. *Poukhanense* bark. *J. Med. Plant Res.* 5(2): 248-254.
- Lezoul NEH, Belkadi M, Habibi F, Guillén F. 2020. Extraction processes with several solvents on total bioactive compounds in different organs of three medicinal plants. *Molecules* 25: 4672. Doi: 10.3390/molecules25204672.
- Opsenica DM, Ristivojević P, Trifković J, Vovk I, Lušić D, Tešić Z. 2016. TLC fingerprinting and pattern recognition methods in the assessment of



- authenticity of poplar-type propolis. *J. of Chromatogr. Sci.* 54(7): 1077–1083. Doi: 10.1093/chromsci/bmw024.
- Puspitasari AD, Proyogo LS. 2017. Perbandingan metode ekstraksi maserasi dan sokletasi terhadap kadar fenolik total ekstrak etanol daun kersen (*Muntingia calabura*). *J. Ilm. Cendekia. Eksakta.* 2(1): 1-8. Doi: 10.3194/ce.v2i1.1791.
- Rafi M, Widyastuti N, Suradikusumah E, Darusman LK. 2012. Aktivitas antioksidan, kadar fenol dan flavonoid total dari enam tumbuhan obat Indonesia. *J. Bahan Alam Indonesia.* 8(3): 159-165.
- Rafi M, Purwakusumah ED, Ridwan T, Barus B, Sutandi A, Darusman LK. 2015. Geographical classification of Java tes (*Orthosiphon stamineus*) from Java Island by FTIR spectroscopy combined with canonical variate analysis. *J. Sains Matematika.* 23(1): 25-31.
- Rafi M, Sakinah NW, Wahyuni WT, Arif Z, Heryanto R. 2021. Autentikasi kumis kucing (*Orthosiphon aristatus*) menggunakan kombinasi spektrum ultraviolet-tampak dan *partial least square regression*. *Indonesian. J. Chemom. Pharm. Anal.* 1(2): 93-101.
- Roy JD, Handique AK, Barua CC, Talukdar A, Ahmed FA, Barua IC. 2014. Evaluation of phytoconstituents and assessment of adaptogenic activity in vivo in various extracts of *Rhododendron arboreum* (leaves). *Indian J. Pharm. Biol. Res.* 2(2): 49-56.
- Samidurai D, Pandurangan AK, KumarKrishnamoorthi S, Perumal MK, Nanjian R. 2019. Sinensetin isolated from *Orthosiphon aristatus* inhibits cell proliferation and induces apoptosis in hepatocellular carcinoma cells. *Process Biochem.* 88:213-221. Doi: 10.1016/j.procbio.2019.09.031.
- Sanchez-rangel JC, Benavides J, Heredia JB, Cisneros-Zevallos L, Jacobo-Velázquez DA. 2013. The Folin-Ciocalteu assay revisited: improvement of its specificity for total phenolic content determination. *Anal. Methods.* 5: 5990. Doi: 10.1039/c3ay41125g.
- Shraim AM, Ahmed TA, Rahman MM, Hijji YM. 2021. Determination of total flavonoid content by aluminum chloride assay: A critical evaluation. *LWT* 150: 111932. Doi: 10.1016/j.lwt.2021.111932.
- Septaningsih DA, Purwakusumah ED, Rafi M. 2017. *Atlas Kromatografi Lapis Tipis Tumbuhan Obat Indonesia*. Bogor: IPB Press.
- Tung NN, Tam LT, Anh DH, Hanh TTH, Cuong NX, Cuong NT, Quang TH. 2022. Antimicrobial phenolic metabolites from the aerial parts of *Orthosiphon aristatus*. *Phytochem. Lett.* 52: 49-53. Doi: 10.1016/j.phytol.2022.09.004.
- Ulya N, Endharti AT, Setyohadi R. 2014. Uji daya anthelmintik ekstrak etanol daun kumis kucing (*Orthosiphon aristatus*) sebagai anthelmintik terhadap *Ascaris suum* secara *in vitro*. *Maj.Kesehat. FKUB.* 1(3): 130-136.
- Zhang Q, Lin L, Ye W. 2018. Techniques for extraction and isolation of natural products: a comprehensive review. *Chin. Med.* 13 (20): 1-26. Doi: 10.1186/s13020-018-0177-x.

