

## Skrining Fitokimia, Antioksidan, dan Antibakteri Ekstrak Daun *Orthosiphon stamineus* Dua Fenotipe

### *Phytochemical, Antioxidant and Antibacterial Screening of Orthosiphon stamineus Leaf Extract Two Phenotypes*

**Penulis** Waras Nurcholis<sup>1,2\*</sup>, Fachrur Rizal Mahendra<sup>1</sup>, Milanda Fiorella Gultom<sup>1</sup>, Safira Khoirunnisa<sup>1</sup>, Mayang Anggita Cahya Kurnia<sup>1</sup>, Hamdan Hafizh Harahap<sup>1</sup>

**Afiliasi** <sup>1</sup>Departemen Biokimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor, Kampus IPB Dramaga, Jl. Kamper, Babakan, Kec. Dramaga, Kabupaten Bogor, Jawa Barat 16680  
<sup>2</sup>Pusat 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

- fenotipe ungu
- fenotipe putih
- kumis kucing
- tanaman obat
- senyawa bioaktif

#### Keywords

- purple phenotype
- white phenotype
- cat's whiskers
- medical plants
- bioactive compounds

**Diterima** 21 Desember 2022

**Direvisi** 29 Desember 2022

**Disetujui** 30 Desember 2022

#### \*Penulis Koresponding

**Waras Nurcholis**

email:

[wnurcholis@apps.ipb.ac.id](mailto:wnurcholis@apps.ipb.ac.id)

#### ABSTRAK

Kumis kucing (*Orthosiphon stamineus*) merupakan salah satu tanaman obat yang dapat mengobati berbagai penyakit. Tanaman ini telah diketahui memiliki beberapa kandungan zat aktif seperti polifenol, alkaloid, dan terpenoid yang memiliki aktivitas antioksidan, antibakteri, antivirus, anti radang, anti alergi, dan anti kanker. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan fitokimia, aktivitas antioksidan, serta aktivitas antibakteri pada ekstrak daun kumis kucing. Ekstrak daun kumis kucing diperoleh dengan metode sonikasi-maserasi. Uji aktivitas antioksidan ekstrak daun kumis kucing dilakukan dengan metode CUPRAC dan ABTS. Hasil penelitian menunjukkan ekstrak daun kumis kucing mengandung senyawa bioaktif flavonoid, fenol hidrokuinon, saponin, tanin, serta triterpenoid. Rata-rata aktivitas antioksidan tertinggi dihasilkan oleh ekstrak daun kumis kucing fenotipe ungu dengan metode ABTS yaitu senilai 151,23  $\mu\text{mol TE/g}$  bobot kering. Rata-rata aktivitas antibakteri strain *Escherichia coli* tertinggi diperoleh ekstrak daun kumis kucing fenotipe ungu dengan diameter zona hambat 2.3 mm

#### ABSTRACT

*Cat's whiskers (Orthosiphon stamineus) are a medicinal plant that can treat various diseases. Cat's whiskers have been known to contain bioactive compounds, namely polyphenol, alkaloid, and terpenoid which have antioxidant, antibacterial, antiviral, anti-inflammatory, anti-allergic, and anti-cancer activities. This study aims to determine the phytochemical content, antioxidant activity, and antibacterial activity of the cat's whiskers leaf extract. Cat's whiskers leaf extract was obtained by the sonication-maceration method. Antioxidant activity test of cat's whiskers leaf extract was tested using the CUPRAC and ABTS methods. The results showed that the cat's whiskers leaf extract contains bioactive compounds of polyphenol, alkaloid, and terpenoid. The highest average antioxidant activity was produced by the purple phenotype cat's whiskers leaf extract using the ABTS method, which was 168.68  $\mu\text{g TE/g}$  dry weight. The highest average antibacterial activity in *Escherichia coli* strain was obtained from leaf extract of purple phenotype cat's whiskers (U2) with an inhibition zone diameter of 3.2 mm.*



## PENDAHULUAN

Tanaman obat sudah dikenal sejak dimulainya peradaban dan digunakan sebagai pengobatan tradisional (Sudrajat 2016). Indonesia sendiri merupakan negara yang kaya akan sumber daya alamnya, khususnya memiliki varietas tanaman obat yang sangat berlimpah. Hal ini tentunya sangat berpotensi dalam penemuan kandidat obat baru yang bersumber dari tanaman obat (Listyana *et al.* 2022). Tanaman obat dapat diartikan sebagai jenis tanaman yang berfungsi ataupun berkhasiat sebagai obat dan digunakan untuk penyembuhan ataupun pencegahan berbagai macam penyakit (Sarno 2019). Khasiat pada tanaman obat disebabkan oleh adanya kandungan senyawa aktif berupa metabolit sekunder, seperti senyawa alkaloid, terpenoid, flavonoid, tanin, dan steroid (Dacosta *et al.* 2017). Tanaman menggunakan senyawa metabolit sekunder sebagai pertahanan diri terhadap lingkungan, hama, maupun penyakit (Julianto 2019).

Salah satu tanaman di Indonesia yang dapat dimanfaatkan sebagai tanaman obat adalah kumis kucing (*Orthosiphon stamineus*). Kumis kucing dapat dimanfaatkan untuk mengobati penyakit TBC, maag, sakit kuning, dan susah buang air kecil (Syamsiah *et al.* 2016). Tanaman yang masuk ke dalam famili Lamiaceae atau Labiatae ini memiliki tinggi mencapai dua meter dengan daun yang berbentuk bulat telur lonjong ataupun belah ketupat (Rizal dan Sustriana 2019). Berdasarkan dari fenotipe warna bunga *Orthosiphon stamineus* diklasifikasikan menjadi dua varietas: yaitu bunga berwarna putih (varietas putih) dan bunga berwarna ungu (varietas ungu). Varietas ungu memiliki lebih banyak senyawa bioaktif daripada varietas putih (Ameer *et al.* 2012). Tanaman ini telah diketahui memiliki beberapa kandungan zat aktif yaitu polifenol, saponin, hingga terpenoid yang memiliki efek nefroprotektif (Tandi *et al.* 2017). Menurut beberapa penelitian, kandungan flavonoid dalam bahan alam memiliki aktivitas antioksidan, antibakteri, antivirus, anti radang, anti alergi, dan anti kanker (Sari dan Hastuti 2020).

Penelitian ini meliputi uji aktivitas antioksidan, uji fitokimia, dan uji antibakteri pada ekstrak daun kumis kucing dengan fenotipe putih dan ungu. Uji aktivitas antioksidan yang dilakukan meliputi uji ABTS yaitu 2,2-azinobis-3-Ethylbenzothiazoline-6-Sulfonic Acid dan Cupric Ion Reducing Antioxidant (CUPRAC). Uji kelompok senyawa fitokimia dilakukan dengan menggunakan metode kualitatif dalam skrining metabolit golongan polifenol (fenolik, flavonoid, dan

tanin), alkaloid, dan terpenoid (steroid). Selain itu, uji antibakteri menggunakan strain bakteri negatif seperti *E. Coli* untuk menentukan potensi ekstrak daun kumis kucing dalam aktivitas antibakteri.

## METODE

### Alat dan Bahan

Daun kumis kucing diperoleh dari Koleksi Kebun Pusat Penelitian Biofarmaka Tropika, Institut Pertanian Bogor, Jawa Barat, Indonesia (6°32'25.47" LU, 106°42'53.22" BT, 142,60 meter di atas permukaan laut. Daun kumis kucing dideterminasi di Laboratorium Biokimia Fakultas Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian Bogor. Alat-alat yang digunakan berupa alat-alat gelas dan kaca, vakum, sonikator, penangas air, *waterbath shaker*, oven, penyaring serbuk 80 Mesh, neraca analitik, *rotary evaporator*, kertas saring, pipet, mikropipet, *microplate 96 well* (Biologix), dan spektrofotometer nano (SPECTROstarNano BMG LABTECH).

Adapun bahan yang dibutuhkan yaitu daun kumis kucing dua fenotipe (ungu dan putih), etanol 96%, kloroform (Merck), NH<sub>4</sub>OH (Merck), H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (Merck), reagen Mayer (HgCl<sub>2</sub> Fisher, KI Merck), reagen Wagner (KI Merck, Iodin), reagen Dragendorff (fisher), FeCl<sub>3</sub> 5%, serbuk Mg (SRL), HCN 2N (SRL), amilalkohol (Merck), FeCl<sub>3</sub> (SRL), reagen Liebermann-Burchard (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> Merck, Asam Asetat anhidrat Merck), reagen ABTS (SRL), akuabides, kalium persulfat (SRL), CuCl<sub>2</sub> (SRL), neukoprin (SRL), buffer amonium asetat pH 7 (Merck), dan media TSA (Merck).

### Ekstraksi Daun Kumis Kucing (Sonikasi-Maserasi)

Sebanyak 5 gram simplisia daun *Orthosiphon aristatus* (fenotipe ungu dan putih) dilarutkan dalam 50 mL pelarut etanol 96% (1:10). Setelah larut, sampel dihomogenisasi menggunakan sonikator selama 30 menit yang dilanjutkan dengan maserasi pada suhu 30°C selama 24 jam menggunakan *waterbath shaker*. Maserat disaring menggunakan vakum dan digunakan dalam pengujian fitokimia. Hasil penyaringan dipekatkan kembali menggunakan *rotary evaporator* untuk pengujian aktivitas antibakteri.

### Uji Alkaloid

Sebanyak 1 mL filtrat ditambahkan 5 mL kloroform dan 2 tetes amonium hidroksida (NH<sub>4</sub>OH) kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi bertutup. Ekstrak kloroform dalam tabung reaksi dikocok dengan 6 mL H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (2 M) dan lapisan asamnya dipisahkan ke dalam tabung reaksi yang lain. Lapisan asam diteteskan pada



plat porselen dan ditambahkan pereaksi Mayer, Wagner, dan Dragendorf yang akan menimbulkan endapan warna berturut-turut putih, coklat, dan merah jingga.

#### **Uji Fenol Hidrokuinon**

Sebanyak 1 mL filtrat cair masing-masing ditambahkan dengan 3 tetes larutan  $\text{FeCl}_3$  5%. Adanya perubahan warna menjadi ungu kehitaman menunjukkan adanya senyawa fenol.

#### **Uji Flavonoid (Permadi *et al.* 2015)**

Sebanyak 1 mL filtrat cair masing-masing ditambahkan dengan serbuk magnesium dan asam klorida (2 N) kemudian dipanaskan, ditambahkan amil alkohol, dan dihomogenkan. Hasil positifnya adalah tertariknya warna kuning-merah pada lapisan alkohol.

#### **Uji Saponin (Permadi *et al.* 2015)**

Sebanyak 1 mL filtrat cair dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 10 mL air panas, didinginkan, dan dihomogenkan selama 10 detik. Kemudian sebanyak 1 mL sediaan awal ditambah dengan 10 mL air dan dihomogenkan selama 10 menit. Reaksi positif jika terbentuk buih yang stabil selama tidak kurang dari 10 menit, setinggi 1 cm sampai 10 cm serta pada penambahan 1 tetes asam klorida 2 N buih tidak hilang.

#### **Uji Tanin (Permadi *et al.* 2015)**

Sebanyak 2 mL filtrat cair dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 3 tetes pereaksi besi (III) klorida ( $\text{FeCl}_3$ ). Reaksi positif ditunjukkan jika larutan berwarna biru atau hitam serta ditambahkan gelatin hingga terbentuk endapan putih untuk memastikan keberadaan tannin.

#### **Uji Terpenoid dan Steroid (Fernandes *et al.* 2018)**

Identifikasi dilakukan dengan menggunakan campuran asam asetat anhidrid dan asam sulfat pekat yang biasa dikenal dengan pereaksi Liebermann-Burchard. Pengujian ini dilakukan dengan menambahkan sebanyak 10 tetes asam asetat anhidrid dan 2 tetes asam sulfat pekat ke dalam 1 ml sampel uji yang telah dilarutkan dalam aseton. Selanjutnya sampel uji dikocok dan dibiarkan beberapa menit. Reaksi yang terjadi diikuti dengan perubahan warna, apabila terlihat warna merah dan ungu maka uji dinyatakan positif untuk triterpenoid dan apabila terlihat warna hijau dan biru maka uji dinyatakan positif adanya steroid.

#### **Uji Aktivitas Antioksidan Metode ABTS**

Uji aktivitas antioksidan metode ABTS dimulai dengan pembuatan larutan ABTS yang terdiri dari 90 mg ABTS dan akuabides yang ditakar hingga 25 mL. Larutan ABTS kemudian ditampung di botol gelap, dibungkus aluminium foil, dan dimasukkan pada lemari pendingin. Pembuatan kalium persulfat dilakukan dengan melarutkan 66,289 mg  $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$  pada akuabides hingga 100 mL ( $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$  2,4 mM). Larutan ABTS dan kalium persulfat kemudian ditampung di botol gelap, dibungkus aluminium foil, dan dimasukkan pada lemari pendingin. Langkah selanjutnya yaitu pembuatan reagen ABTS dengan mencampurkan ABTS 7 mM dan  $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$  2,4 mM dengan perbandingan 2:1, setelah itu dilakukan variasi penambahan akuabides agar mencapai absorbansi sebesar  $0,7 \pm 0,02$  pada panjang gelombang 734 nm.

Pengujian sampel dengan metode ABTS dilakukan dengan menambahkan sebanyak 20  $\mu\text{L}$  sampel dengan 280  $\mu\text{L}$  reagen ABTS, kemudian diinkubasi 6 menit pada ruang gelap dan suhu ruang. Hasil inkubasi kemudian diukur dengan panjang gelombang 734 nm dan dinyatakan dalam  $\mu\text{mol TE/g}$  bobot kering. Standar yang digunakan adalah Trolox dengan rentang konsentrasi 0-350  $\mu\text{M}$ .

#### **Uji Aktivitas Antioksidan Metode CUPRAC**

Uji aktivitas antioksidan metode CUPRAC dimulai dengan menambahkan 50  $\mu\text{L}$  sampel dengan 50  $\mu\text{L}$   $\text{CuCl}_2$  0,01 M, 50  $\mu\text{L}$  neokuproin 0.0075 M, dan 50  $\mu\text{L}$  larutan buffer amonium asetat pH 7. Larutan kemudian diinkubasi 30 menit pada suhu ruang dan ruang gelap. Pengukuran absorbansi dilakukan pada panjang gelombang 450 nm dan dinyatakan dalam  $\mu\text{mol TE/g}$  bobot kering. Standar yang digunakan yaitu Trolox dengan rentang konsentrasi 0-800  $\mu\text{mol}$ .

#### **Pengujian Aktivitas Antibakteri Metode Cakram Kertas**

Sebanyak 12 gram media TSA dilarutkan ke dalam 300 ml akuades dan dipanaskan, setelah larut dilakukan proses autoklaf selama 15 menit pada suhu  $121^\circ\text{C}$ , setelah itu dituang ke cawan petri sebanyak 15 ml lalu ditunggu hingga memadat dan bisa digunakan untuk uji selanjutnya.

Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan menggunakan cakram kertas diameter 5,32 cm yang berfungsi untuk menampung zat antimikroba. Sebanyak 50  $\mu\text{L}$  suspensi *Escherichia coli* ditambahkan pada media TSA yang telah memadat dalam cawan petri. Kertas cakram ditambahkan 10  $\mu\text{L}$  larutan



berbagai perlakuan, yaitu sampel ekstrak daun kumis kucing yang telah dilarutkan dengan aquades hingga didapatkan konsentrasi 10 ppm, Ampicillin 1% sebagai kontrol positif, dan pelarut aquades sebagai kontrol negatif. Kemudian kertas cakram diletakkan pada media pertumbuhan yang telah diinokulasi bakteri uji. Media pertumbuhan bakteri kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Uji aktivitas terhadap masing-masing sampel dilakukan sebanyak 3 kali ulangan (triplo). Kemudian diamati hasil inkubasi, area jernih yang terbentuk di sekeliling cakram diukur menggunakan jangka sorong pengukuran dilakukan secara 2 kali ulangan. Area jernih tersebut menunjukkan daya hambat senyawa yang terkandung pada sampel ekstrak terhadap pertumbuhan bakteri. Pengujian ini dilakukan di dalam laminar air flow pada kondisi steril.

### Analisis Data

Analisis data aktivitas antioksidan metode CUPRAC dan ABTS dinyatakan sebagai nilai rata-rata dan standar error (SE). Hasilnya dianalisis dengan menggunakan *one-way analysis of variance* (ANOVA) dengan menggunakan software SPSS. Perbandingan dilakukan untuk mendeteksi perbedaan yang signifikan ( $p < 0,05$ ) antara nilai rata-rata yang memiliki lebih dari dua kelompok.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Analisis Fitokimia

Senyawa fenolik adalah salah satu kelompok senyawa terbesar yang memiliki peran sebagai antioksidan alami pada tumbuhan (Dhurhania dan Novianto 2018). Senyawa ini termasuk ke dalam golongan metabolit sekunder polifenol yang berperan sebagai antioksidan, antikanker, antiinflamasi, dan sebagainya (Mahardani dan Yuanita 2021). Berdasarkan hasil uji terhadap ekstrak daun kumis kucing fenotipe ungu didapatkan perubahan warna sampel yang semula hijau muda berubah menjadi hijau kehitaman setelah direaksikan dengan pereaksi  $\text{FeCl}_3$ . Hal ini disebabkan karena senyawa fenolik bereaksi dengan  $\text{FeCl}_3$  1% dan membentuk warna merah, ungu, biru, atau hitam yang pekat karena  $\text{FeCl}_3$  bereaksi dengan gugus  $-\text{OH}$  aromatis (Haryati *et al.* 2015). Kompleks berwarna yang terbentuk diduga sebagai besi (III) heksafenolat. Ion  $\text{Fe}^{3+}$  mengalami hibridisasi pada orbital  $d^2sp^3$  sehingga ion  $\text{Fe}^{3+}$  memiliki 6 orbital kosong yang diisi oleh pendonor pasangan elektron, yaitu atom oksigen pada senyawa fenolik yang memiliki pasangan elektron bebas (Marliana dan Saleh 2011).

Flavonoid merupakan senyawa yang memiliki banyak gugus  $-\text{OH}$  dengan adanya perbedaan keelektronegatifan yang tinggi sehingga bersifat polar (Ikalinus *et al.* 2015). Flavonoid termasuk salah satu kelompok senyawa fenolik yang banyak ditemukan di dalam jaringan tanaman dan memiliki peran sebagai antioksidan. Aktivitas antioksidan ini berasal dari kemampuan flavonoid dalam mendonasikan atom hidrogennya atau melalui kemampuannya mengkelat logam (Marsella *et al.* 2016). Hasil uji fitokimia yang telah dilakukan terhadap ekstrak daun kumis kucing fenotipe ungu dan putih menunjukkan hasil yang positif dengan munculnya warna kuning pada lapisan alkohol.

Saponin merupakan senyawa glikosida steroid atau triterpenoid ditemukan dalam berbagai tanaman. Senyawa saponin banyak dimanfaatkan untuk kepentingan manusia karena saponin memiliki cakupan peran yang besar seperti antibakteri, antifungi, kemampuan menurunkan kolesterol dalam darah, dan menghambat pertumbuhan sel tumor (Yanuartono *et al.* 2017). Ekstrak daun kumis kucing fenotipe ungu dan putih ketika dilakukan uji saponin menunjukkan hasil positif dengan terbentuknya busa stabil setelah didiamkan 10 menit dan direaksikan dengan HCl 2N. Saponin merupakan senyawa bersifat kompleks dan memiliki karakteristik berupa buih, sehingga ketika direaksikan dengan air dan dikocok maka akan terbentuk buih (Gunawan 2018). Senyawa saponin memiliki glikosil sebagai gugus polar serta gugus steroid atau triterpenoid sebagai gugus nonpolar sehingga saat dikocok dengan air permukaannya bersifat aktif dan membentuk misel. Struktur misel gugus nonpolar menghadap ke dalam sedangkan gugus polar menghadap ke luar dan keadaan inilah yang tampak seperti buih atau busa (Habibi *et al.* 2018).

Senyawa tanin merupakan salah satu senyawa aktif metabolit sekunder yang memiliki beberapa khasiat, yaitu sebagai astringen, antidiare, antibakteri, dan antioksidan (Makatamba *et al.* 2022). Hasil uji tanin pada ekstrak daun kumis kucing fenotipe ungu dan putih menunjukkan adanya endapan putih setelah direaksikan dengan gelatin. Endapan yang terbentuk disebabkan karena gelatin merupakan salah satu jenis protein yang mampu diendapkan oleh tanin. Endapan tersebut terbentuk karena adanya ikatan hidrogen antara tanin dan protein pada gelatin. Ikatan hidrogen yang terbentuk disebabkan oleh atom H yang terikat dengan 2 atom O ataupun terikat dengan atom O dan N dari struktur tanin dan gelatin (Ikalinus *et al.* 2015). Adanya endapan yang terbentuk menandakan bahwa



terdapat kandungan senyawa tanin pada kedua sampel tanaman kumis kucing (Sari *et al.* 2015).

Alkaloid merupakan senyawa fitokimia yang jumlahnya paling banyak dijumpai pada semua bagian tumbuhan dan memiliki cincin heterosiklik (Minarno 2015). Alkaloid berperan sebagai zat *antispasmodic* (meredakan kejang otot dengan menurunkan tegangan tinggi jaringan otot polos pada saluran pencernaan), antiinflamasi serta sebagai antimikroba (Surahmida dan Umarudin 2019). Terdapat 3 pereaksi yang digunakan pada uji alkaloid, yaitu reagen dragendorff, wagner, dan mayer. Ekstrak daun kumis kucing baik fenotipe ungu maupun putih menunjukkan hasil positif pada tiap reagen.

Steroid memiliki peran penting dalam fisiologi dan biokimia makhluk hidup. Steroid memiliki aktivitas farmakologis seperti merangsang pertumbuhan otot dan mengurangi massa lemak, obat kontrasepsi, antikanker, obat penenang, dan anti-inflamasi (Sultan dan Raza 2015). Hasil positif pada uji steroid ditandai dengan terbentuknya warna hijau-biru ketika direaksikan dengan asetat-anhidrit karena adanya pembentukan ikatan rangkap terkonjugasi yang menyebabkan reaksi oksidasi pada golongan steroid (Fajriaty *et al.* 2018). Berdasarkan penelitian, sampel ekstrak daun kumis kucing fenotipe ungu dan putih

menunjukkan hasil negatif dengan tidak terbentuk warna hijau-biru.

Triterpenoid merupakan senyawa metabolit sekunder turunan terpenoid yang kerangka karbonnya berasal dari enam satuan isoprena (2-metilbuta-1,3-diene) yaitu kerangka karbon yang dibangun oleh enam satuan C5 dan diturunkan dari hidrokarbon C30 asiklik, yaitu skualena (Balafif *et al.* 2013). Triterpenoid memiliki manfaat dalam meningkatkan fungsi mental dan memberi efek menenangkan. Senyawa ini juga berperan dalam merevitalisasi pembuluh darah sehingga memperlancar peredaran darah menuju otak (Sutardi 2016). Uji triterpenoid ekstrak daun kumis kucing menunjukkan positif terpenoid dengan adanya cincin kecoklatan pada sampel uji baik fenotipe ungu maupun putih (Tabel 1).

#### Uji Aktivitas Antioksidan

Aktivitas antioksidan ekstrak daun kumis kucing diuji dengan metode ABTS *2,2-azinobis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid* dan *cupric reducing antioxidant capacity* (CUPRAC). Metode ABTS dipilih karena waktu yang dibutuhkan untuk reaksi antioksidan lebih cepat serta dapat mendeteksi senyawa hipofilik dan lipofilik (Jatmiko dan Mursiti 2021). Adapun metode CUPRAC dipilih pada penelitian

**Tabel 1.** Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Kumis Kucing

No	Skrining Fitokimia	Pereaksi	Perubahan Warna		Hasil Uji	
			Fenotipe Ungu	Fenotipe Putih	Fenotipe Ungu	Fenotipe Putih
1.	Fenol Hidrokuino	FeCl <sub>3</sub>	Hijau menjadi hijau kehitaman	Hijau menjadi hijau kehitaman	+	+
2.	Flavonoid	HCl	Hijau menjadi hijau kekuningan	Hijau menjadi hijau kekuningan	+	+
3.	Saponin	Akuades, dipanaskan, dikocok, ditambah HCl 2N	Timbul busa yang stabil	Timbul busa yang stabil	+	+
4.	Tanin	FeCl <sub>3</sub>	Hijau menjadi hijau kehitaman	Hijau menjadi hijau kehitaman	+	+
5.	Alkaloid	Meyer	Hijau menjadi putih	Hijau menjadi putih	+	+
		Wagner	Hijau menjadi coklat	Hijau menjadi coklat	+	+
		Dragendorff	Hijau menjadi merah iinosa	Hijau menjadi merah iinosa	+	+
6.	Steroid	Liebermann-Burchard (asam	Hijau menjadi	Hijau menjadi	-	-
7.	Triterpenoid	Liebermann-Burchard (asam	Terbentuk cincin	Terbentuk cincin	+	+



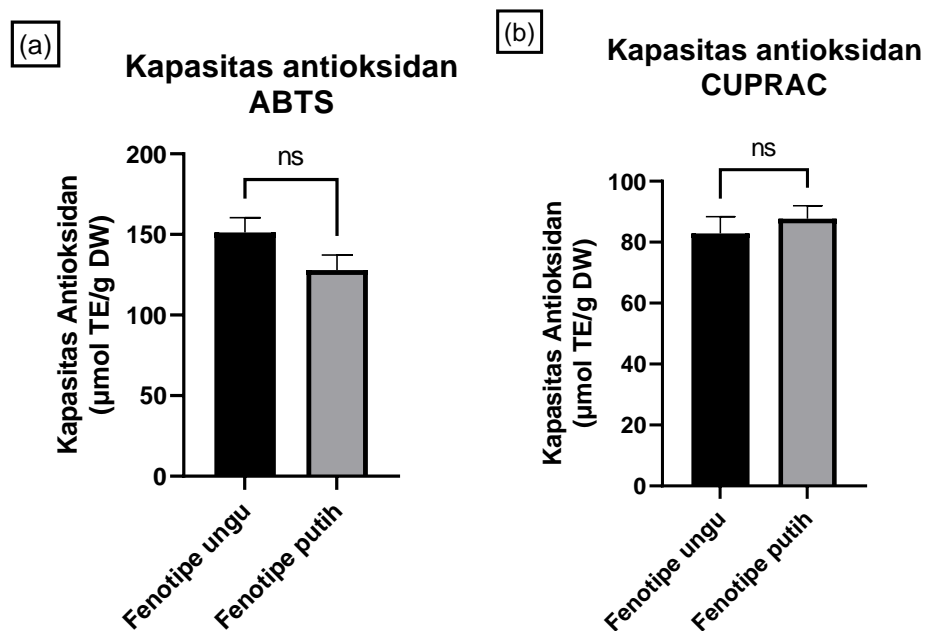
ini karena reagen CUPRAC termasuk dalam reagen selektif dengan nilai potensial reduksi rendah serta lebih stabil (Maryam *et al.* 2019). Uji aktivitas antioksidan metode ABTS memiliki mekanisme penangkapan radikal bebas dengan pemutusan rantai reaksi radikal dengan donor radikal hidrogen secara cepat (Azizah *et al.* 2019). Berdasarkan **Gambar 1**, aktivitas antioksidan metode ABTS daun kumis kucing fenotipe ungu lebih tinggi dibandingkan daun kumis kucing fenotipe putih. Hal ini menunjukkan fenotipe ungu dominan dalam transfer atom hidrogen. Selain itu, daun kumis kucing fenotipe ungu juga memiliki kandungan senyawa bioaktif lebih banyak (Ameer *et al.* 2012).

Uji aktivitas antioksidan CUPRAC bertujuan menguji daya reduksi oleh senyawa antioksidan melalui transfer elektron. Reagen yang digunakan adalah bis (neokuproin) tembaga (II) ( $\text{Cu}(\text{Nc})_2^{2+}$ ) dengan kapasitas antioksidan senilai dengan jumlah total tembaga yang direduksi oleh antioksidan melalui mekanisme transfer elektron (Awaluddin dan Wahyuningsih 2019). Berdasarkan **Gambar 1**, aktivitas antioksidan metode CUPRAC pada daun kumis kucing fenotipe putih lebih tinggi dibandingkan pada daun kumis kucing fenotipe ungu. Hal ini menunjukkan fenotipe putih dominan dalam transfer elektron. Hasil pengujian CUPRAC juga dapat digunakan untuk menguji kapasitas antioksidan senyawa fenolik (Awaluddin dan Wahyuningsih 2019). Dengan demikian, daun kumis kucing fenotipe putih memiliki kandungan senyawa fenolik lebih banyak.

Aktivitas antioksidan metode ABTS menunjukkan hasil lebih tinggi dibandingkan dengan metode CUPRAC (**Gambar 1**). Hal ini karena sifat hidrofilik daun kumis kucing menghasilkan kemampuan perendaman lebih baik terhadap metode ABTS (Istikharah 2015). Metode ABTS juga memberikan absorbansi yang lebih spesifik pada panjang gelombang visible (Jatmiko dan Mursiti 2021). Berdasarkan penelitian, terdapat pengaruh yang signifikan antara aktivitas antioksidan fenotipe ungu dengan fenotipe putih. Perolehan rata-rata aktivitas antioksidan metode ABTS pada fenotipe putih yaitu sebesar 127,89 ( $\mu\text{mol TE/g DW}$ ), sedangkan pada fenotipe ungu yaitu sebesar 151,23 ( $\mu\text{mol TE/g DW}$ ). Perolehan rata-rata aktivitas antioksidan metode CUPRAC pada fenotipe putih yaitu sebesar 87,67 ( $\mu\text{mol TE/g DW}$ ), sedangkan pada fenotipe ungu sebesar 82,89 ( $\mu\text{mol TE/g DW}$ ). Faktor dari perbedaan hasil aktivitas antioksidan kedua fenotipe ini dipengaruhi oleh sifat dan senyawa bioaktif yang terkandung serta mekanisme transfer atom yang dimiliki oleh setiap fenotipe.

#### Aktivitas Antibakteri

Aktivitas antibakteri ekstrak kumis kucing terhadap bakteri *Escherichia coli* dilakukan menggunakan 3 perlakuan yang terdiri dari konsentrasi 10.000 ppm untuk masing-masing ekstrak daun fenotipe ungu dan putih. Kontrol positif yang digunakan yaitu Ampicillin 1% dan kontrol negatif menggunakan aquades. Pengujian menggunakan metode cakram kertas untuk

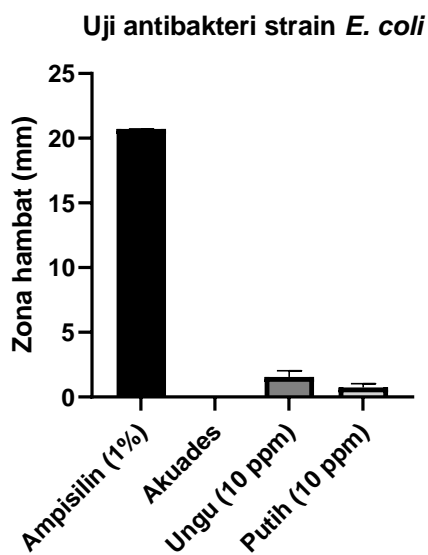


**Gambar 1.** Hasil Pengukuran Kapasitas Antioksidan Fenotipe Bunga Kumis Kucing dengan Metode (a) ABTS dan (b) CUPRAC



melihat zona hambat yang terbentuk dari diameter zona bening sebagai indikator proses penghambatan pertumbuhan bakteri.

Hasil penelitian pada **Gambar 2**. menunjukkan diameter zona hambat bakteri *Escherichia coli* paling besar terdapat pada kontrol positif dengan rerata 26.74 mm dan diikuti oleh ekstrak sampel daun kumis kucing fenotipe ungu (2.3 mm) lalu yang terkecil fenotipe putih (1.4 mm). Pengukuran diameter zona hambat dapat digolongkan sesuai klasifikasi zona hambat menurut Davis dan Stout. Kriteria kekuatan daya antibakteri, yaitu diameter zona hambat 5 mm atau kurang dikategorikan lemah, zona hambat 5-10 mm dikategorikan sedang, zona hambat 10-20 mm dikategorikan kuat dan zona hambat 20 mm atau lebih dikatakan sangat kuat (Ariyani *et al.* 2018). Hal ini menunjukkan bahwa sampel ekstrak daun kumis kucing fenotipe ungu dan putih berada dalam kategori zona hambat lemah dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*.



**Gambar 2.** Hasil Rata-Rata Diameter Zona Hambat Ekstrak Daun Kumis Kucing terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli*

Berdasarkan penelitian Pangow *et al.* (2020), ekstrak daun kumis kucing cukup efektif sebagai antibakteri dengan daya hambat sedang terhadap strain *Escherichia coli*. Senyawa antibakteri yang terdapat pada kumis kucing meliputi polifenol, alkaloid, dan terpenoid. Penelitian Nisak dan Rini (2021) menunjukkan bahwa senyawa ini dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif seperti *Proteus mirabilis* dan *Staphylococcus saprophyticus*. Adapun

bakteri gram negatif seperti *Escherichia coli* memiliki struktur dinding sel relatif kompleks sehingga senyawa antibakteri sukar masuk ke dalam sel untuk dapat bekerja dalam menghambat aktivitas bakteri tersebut.

Resistensi *Escherichia coli* terhadap antibiotik ampisillin ditunjukkan dengan diameter zona hambat 12 mm, intermediet dengan diameter 12-14 mm, dan sensitif dengan diameter 17 mm (Walewangko *et al.* 2015). Strain *Escherichia coli* sensitif terhadap Ampicillin dengan ditunjukkan pada diameter zona daya hambat sebesar 26.74 mm. Adapun kontrol negatif yang menggunakan akuades tidak menunjukkan adanya zona hambat. Hasil zona hambat lemah pada sampel ekstrak daun kumis kucing disebabkan kandungan senyawa antibakteri yang tidak bekerja secara optimum. Faktor yang dapat mempengaruhi efektivitas senyawa bioaktif sampel yang diteliti meliputi metode maserasi maupun pelarut organik yang digunakan (Pangow *et al.* 2020).

## SIMPULAN

Ekstrak daun kumis kucing baik fenotipe ungu maupun putih keduanya menunjukkan hasil uji positif pada uji senyawa bioaktif flavonoid, fenol hidrokuinon, saponin, tanin, serta triterpenoid namun memberikan hasil negatif pada uji steroid. Rata-rata aktivitas antioksidan tertinggi dihasilkan oleh ekstrak daun kumis kucing fenotipe ungu dengan metode ABTS yaitu senilai 151,23  $\mu\text{mol TE/g DW}$ . Sedangkan aktivitas antibakteri tertinggi diperoleh dari ekstrak daun kumis kucing fenotipe ungu dengan diameter zona hambat 2.3 mm dan termasuk dalam klasifikasi zona hambat bakteri *Escherichia coli* yang lemah.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kami ucapkan pada Martini Hidayanti selaku laboran dalam membantu bahan dan teknis pelaksanaan penelitian di Laboratorium Biokimia Departemen Biokimia, FMIPA, IPB.

## DAFTAR PUSTAKA

- Ameer OZ, Salman IM, Asmawi MZ, Ibraheem ZO, Yam MF. 2012. *Orthosiphon stamineus*: traditional uses, phytochemistry, pharmacology, and toxicology. *J Med Food*. 15(8):678-690.
- Ariyani H, Nazemi M, Hamidah, Kumiati M. 2018. Uji aktivitas antibakteri kulit limau (*Cytrus hystrix* DC) terhadap beberapa bakteri. *Journal of Current Pharmaceutical Sciences*. 2(1):136-141.
- Awaluddin N, Wahyuningsih S. 2019. Uji aktivitas antioksidan ekstrak methanol klika anak dara



- (*Croton oblongus* Burm) menggunakan metode DPPH. *Jurnal Farmasi FKIK UINAM*. 2:38-45.
- Azizah S, Nursamsiar, Nur S. 2019. Uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun kedondong hutan (*Spondias pinnata* (L.F.) Kurz.) dengan berbagai metode uji. *Jurnal Ilmiah Manuntung*. 5(1):91-96.
- Balafif RAR, Andayani Y, Gunawan ER. 2013. Analisis senyawa triterpenoid dari hasil fraksinasi ekstrak air buah buncis (*Phaseolus vulgaris* Linn). *Chem. Prog.* 6(2): 56-61.
- Dacosta M, Sudirga SK, Muksin IK. 2017. Perbandingan kandungan minyak atsiri tanaman sereh wangi (*Cymbopogon nardus*\_L. Rendle) yang ditanam di lokasi berbeda. *Simbiosis*. 1:25-31.
- Dhurhanian CE, Novianto A. 2018. Uji kandungan fenolik total dan pengaruhnya terhadap aktivitas antioksidan dari berbagai sentuk sediaan sarang semut (*Myrmecodia pendens*). *Jurnal Farmasi dan Ilmu Kefarmasian Indonesia*. 5(2):62-68.
- Fajriaty I, Hariyanto IH, Andres, Setyaningrum Risky. 2018. Skrining fitokimia dan analisis kromatografi lapis tipis dari ekstrak etanol daun bintangur (*Calophyllum soulattri* Burm. F). *Jurnal Pendidikan Informatika dan Sains*. 7(1):54-67.
- Gunawan DH. 2018. Penurunan senyawa saponin pada gel lidah buaya dengan perebusan dan pengukusan. *Jurnal Teknologi Pangan*. 9(1):41-44.
- Habibi AI, Firmansyah RA, Setyawati SM. 2018. Skrining fitokimia ekstrak n-heksan korteks batang salam (*Syzygium polyanthum*). *Indonesian Journal Of Chemical Science*. 7(1):1-4.
- Haryati NA, Erwin CS. 2015. Uji toksisitas dan aktivitas antibakteri ekstrak daun merah (*Syzygium myrtifolium* Walp) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *J. Kimia Mulawarman*. 13(1):35-39.
- Ikalinis R, Widyastuti SK, Setiasih NLE. 2015. Skrining fitokimia ekstrak etanol kulit batang kelor (*Moringa oleifera*). *Indonesia Medicus Veterinus*. 4(1):71-79.
- Istikharah R. 2015. Aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun *Sonchus arvensis* L. *Jurnal Ilmiah Farmasi*. 11(2):30-65.
- Jatmiko MP, Mursiti S. 2021. Isolation, Identification, and activity test of flavonoid compounds in jamblang leaves (*Syzygium cumini* L.) as antioxidants. *Indonesian Journal of Chemical Science*. 10(2):129-138.
- Julianto TS. 2019. *Fitokimia: Tinjauan Metabolit Sekunder dan Skrining Fitokimia*. Yogyakarta: Universitas Islam Indonesia.
- Listyana NH, Darsono, Sutrisno J. 2022. Potensi pengembangan tanaman obat di wilayah aglomerasi Solo Raya. *Jurnal Tumbuhan Obat Indonesia*. 15(1): 17-30.
- Mahardani OT, Yuanita L. 2021. Efek metode pengolahan dan penyimpanan terhadap kadar senyawa fenolik dan aktivitas antioksidan. *UNESA Journal of Chemistry*. 10(1):64-78.
- Makatamba V, Fatimawali, Rundengan G. 2022. Analisis senyawa tanin dan aktifitas antibakteri fraksi buah sirih (*Piper betle* L) terhadap *Streptococcus mutans*. *Jurnal MIPA*. 9(2):75-80.
- Marliana SD, Saleh C. 2011. Uji fitokimia dan aktivitas antibakteri ekstrak kasar etanol, fraksi n-heksana, etil asetat, dan metanol dari buah labu air (*Lagenaria Siceraria* (Morliana). *J. Kimia Mulawarman*. 8(2):39-63.
- Marsella R, Thohari I, Radiati LE. 2016. Pengaruh daun salam (*Syzygium polyanthum*) terhadap protein kuning telur, total fenol dan flavonoid pada telur asin. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Hasil Ternak*. 11(2):23-27.
- Maryam St, Pratam R, Effendi N, Naid T. 2019. Analisis aktivitas antioksidan ekstrak etanolik daun yodium (*Jatropha multifida* L.) dengan metode cupric ion reducing antioxidant capacity (CUPRAC). *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*. 2(1):90-93.
- Minarno EB. 2015. Skrining fitokimia dan kandungan total flavonoid pada buah *Carica pubescens* & *K. Koch* di kawasan Bromo, Cangar, dan Dataran Tinggi Dieng. *El-Hayah*. 3(2):73-82.
- Nisak K, Rini CS. 2021. Uji aktivitas antibakteri ekstrak daun kumis kucing (*Orthosiphon aristatus*) terhadap *Proteus mirabilis* dan *Staphylococcus saprophyticus*. *Journal of Medical Laboratory Science Technology*. 4(2):72-77.
- Pangow E, Posangi J, Lolo WA, Bara RA. 2020. Uji aktivitas antibakteri jamur endofit pada daun dan batang kumis kucing (*Orthosiphon aristatus*) terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *staphylococcus aureus*. *Pharmacon*. 9(2):211-218.
- Rizal, Sustriana. 2019. Inventarisasi dan identifikasi tanaman berkhasiat obat di Kabupaten Musi Banyuasin Sumatera Selatan. *Jurnal Indobiosains*. 1(2):50-62.
- Sari DK, Hastuti S. 2020. Analisis flavonoid total ekstrak etanol daun seligi (*Phyllanthus Buxifolius* Muell. Arg) dengan metode spektrofotometri UV-Vis. *Indonesian Journal On Medical Science*. 7(1):55-62.
- Sari PP, Rira WS, Puspawati NM. 2015. Identifikasi dan uji aktivitas senyawa tanin dari ekstrak daun





- trembesi (*Samanea saman* (Jacq.) Merr) sebagai antibakteri *Escherichia coli* (*E. coli*). *Jurnal Kimia*. 9(1):27-34.
- Sarno. 2019. Pemanfaatan tanaman obat (biofarmaka) sebagai produk unggulan masyarakat Desa Depok Banjarnegara. *Abdimas Unwahas*. 4(2):73-78.
- Sudrajat SE. 2016. Mengenal berbagai obat herbal dan penggunaannya. *Jurnal Kedokteran Mdittek*. 22(60):62-71.
- Sultan A, Raza AR. 2015. Steroids: a diverse class of secondary metabolites. *Medicinal Chemistry*. 5(7):310-317.
- Surahmaida, Umarudin. 2019. Studi fitokimia ekstrak daun kemangi dan daun kumis kucing menggunakan pelarut metanol. *Indonesian Chemistry and Application Journal*. 3(1):1-6.
- Sutardi. 2016. Kandungan bahan aktif tanaman pegagan dan khasiatnya untuk meningkatkan sistem imun tubuh. *Jurnal Litbang Pertanian*. 35(3):121-130.
- Syamsiah, Hiola SF, Jumadi O, Mu'nisa A. 2016. *Tumbuhan Obat Tradisional Etnis Lokal Sulawesi Barat*. Makassar: Alaudin University Press.
- Tandi J, Roem M, Yuliet. 2017. Efek nefroprotektif kombinasi ekstrak daun gedi merah dan daun kumis kucing pada tikus induksi etilen glikol. *J. Trop. Pharm. Chem*. 4(1):27-34.
- Walewangko GVCh, Bodhi W, Kepel BJ. 2015. Uji resistensi *Escherichia coli* yang diisolasi dari plak gigi menggunakan merkuri dan ampicilin. *Jurnal e-Biomedik*. 3(1):118-124.
- Yanuartino, Purnamaningsih H, Nururrozi A, Indarjulianto S. 2017. Saponin: dampak terhadap ternak. *Jurnal Peternakan Sriwijaya*. 6(2):79-90.

