

**KARAKTERISASI SENYAWA BIOAKTIF EKSTRAK DAUN
SEMBUNG (*Blumea balsamifera* (L)DC) DARI BEBERAPA JENIS PELARUT**
*Characterization Of Bioactive Compound Of Sembung (*Blumea balsamifera* (L) Dc) Leaf
Extract From Different Solvents*

Ida Bagus Ketut Mantra, I Nengah Kencana Putra dan Luh Putu Wrasianti
Program Studi Magister Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian
Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Udayana

Diterima 31 Januari 2019 / Disetujui 14 Pebruari 2019

ABSTRACT

*Sembung (*Blumea balsamifera* (L) DC) is a species plant on *Blumea* genus, and *Astereceae* (*compositae*) family. The leaf of Sembung is used by human as empiric treatment with extraction or infuse technique to become "jamu", its has function as functional drink, because its consist of flavonoid and alkaloid compound, that has an antioxidant potency. The purpose of this research are to study of effect growth leaf level and some of organic solvent to characterization simplisia powder extract Sembung leaf. The methode of extraction by maseration, then analyze is done such as flavonoid, phenolic total, antioxidant capacity, vitamin C, IC50, and determine volatil compound on the best treatment by GC-MS. The result showed that very singnificant effect to all parameters analysis, and ethyl acetate extract on the tip of Sembung leaf is the best treatment, that consist of flavonoid (204,58 mg QE/g db), phenolic total (225,33 mg GAE/ g db), vitamin C (451,92 mg/g db), antioxidant capacity (501,97 mg GAEAC/g db), and IC 50%(37,09 ppm). The GC-MS analysis showed there are benzena compound, monoterpene (camphor, L-berneol), sesquiterpene (α -guaiene, caryophyllene, humulene) and diterpene (neophytadiene) on the best treatment*

Keywords : *sembung (*Blumea balsamifera*), extraction, solvent, bioactive compound*

ABSTRAK

Sembung (*Blumea balsamifera* (L).DC) merupakan spesies tanaman yang masuk dalam genus *Blumea*, family *Astereceae* (*Compositae*). Bagian daun tanaman sembung secara empiris telah digunakan oleh masyarakat dengan cara ekstraksi atau infusa menjadi jamu yang bermanfaat sebagai minuman fungsional. Hal ini disebabkan daun sembung mengandung senyawa flavonoid dan alkaloid yang berpotensi sebagai antioksidan. Tujuan penelitian adalah untuk mengetahui pengaruh tingkat pertumbuhan daun dan jenis pelarut yang berbeda terhadap karakterisasi senyawa bioaktif ekstrak daun sembung, dan menganalisis senyawa bioaktif yang dominan berfungsi sebagai antioksidan. Metode ekstraksi dilakukan dengan teknik maserasi, selanjutnya dilakukan analisis flavonoid, total fenol, kapasitas antioksidan, Vitamin C, IC50 dan penentuan senyawa bioaktif menggunakan GC-MS. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat pengaruh yang sangat nyata terhadap parameter yang diamati. Ekstrak etil asetat pucuk daun sembung sebagai perlakuan terbaik dengan kadar flavonoid 204,58 mg QE/g bk, total fenol 225,33 mg GAE/g bk, vitamin C 451,92 mg/g bk, kapasitas antioksidan 501,97 mg GAEAC/g bk, dan IC50 37,09 ppm kategori antioksidan kuat. Hasil GC-MS menunjukkan bahwa ekstrak terbaik diduga mengandung senyawa golongan benzena,monoterpen (camphor, L-Borneol), seskuiterpen (α -guaiene, caryophyllene, humulene) dan senyawa diterpen (neophytadiene).

Kata kunci : sembung (*Blumea balsamifera*), ekstraksi, pelarut, senyawa bioaktif.

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan salah satu negara yang kaya akan alamnya. Salah satu kekayaan alam yang dimiliki Indonesia adalah berbagai macam keanekaragaman hayati seperti tumbuhan-tumbuhan yang berkhasiat obat yang saat ini sudah dimanfaatkan sebagai obat tradisional untuk kesehatan keluarga oleh masyarakat Indonesia secara turun temurun. Penggunaan obat tradisional di Indonesia merupakan bagian dari budaya bangsa dan banyak dimanfaatkan oleh masyarakat, namun demikian umumnya efektivitas dan keamanannya belum sepenuhnya didukung oleh penelitian. Sumber daya alam bahan obat dan obat tradisional merupakan aset nasional yang perlu digali, diteliti, dikembangkan dan dioptimalkan pemanfaatannya (Depkes. 2017).

Sembung (*Blumea balsamifera* L) merupakan salah satu tumbuhan yang dapat digunakan sebagai obat (Suweta, 2013). Tanaman sembung telah banyak digunakan dalam sistem pengobatan tradisional sebagai obat untuk peradangan, batuk, bronkitis, dan asma. Masyarakat Bali sejak dahulu mengenal daun sembung digunakan untuk obat, dengan konsep usada taru pramana (Suryadarma, 2005). Umumnya menggunakan bagian daun dari tumbuhan sembung untuk digunakan sebagai loloh. Loloh sembung dipercayai dapat mengobati penyakit panas dalam dan diare. Pengambilan senyawa aktif dalam tumbuhan dapat dilakukan dengan ekstraksi pelarut. Pemilihan jenis pelarut harus mempertimbangkan beberapa faktor antara lain selektivitas, kemampuan untuk mengekstrak, toksisitas, kemudahan untuk diuapkan dan harga pelarut (Harborne, 1987). Larutan pengekstraksi yang digunakan disesuaikan dengan kepolaran senyawa yang diinginkan. Menurut prinsip like dissolves like, suatu pelarut akan cenderung

melarutkan senyawa yang mempunyai tingkat kepolaran yang sama.

Penelitian tentang karakteristik ekstrak bubuk daun sembung pada berbagai tingkat pertumbuhan daun dengan jenis pelarut ekstraksi yang berbeda belum pernah dilaporkan, untuk itu dilakukan penelitian mengenai daun sembung pada berbagai tingkat pertumbuhan yang diekstrak dengan pelarut air, etil asetat dan etanol, dicari karakteristik ekstraksi daun sembung yang terbaik, dilanjutkan dengan analisis senyawa-senyawa bioaktif yang dominan terkandung dalam bubuk daun sembung tersebut, nantinya diharapkan dapat dikembangkan sebagai bahan antioksidan alamiah.

BAHAN DAN METODE

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan Bulan Juni – Agustus 2018 di Laboratorium Biokimia dan Nutrisi, lab. Forensik POLTABES serta Laboratorium Analisis Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Udayana, Kampus Bukit dan Kampus Sudirman.

Bahan dan Alat

Bahan daun tanaman sembung dari berbagai tingkatan pertumbuhan yang diperoleh dari desa Pecatu Badung. Peralatan yang digunakan untuk penelitian ini adalah Oven (*Memmert*), kertas saring, timbangan analitik (*Sartorius*), mikropipet (*Socorex*), spektrofotometer (biochrome), vortex, centrifuge, cawan aluminium, ayakan 20 mesh (*Retsch*), rotary vakum evaporator, tabung reaksi (*pyrex*), pipet volume 1 ml (*pyrex*), pipet volume 5 ml (*pyrex*), gelas beker (*pyrex*), labu ukur (*pyrex*). Bahan kimia yang digunakan adalah Folin-Ciocalteu (*Merck*) sodium karbonat 22% (*Merck*), Follin denish reagen (*Merck*), Etanol 99% (*Merck*), Etil asetat (*Merck*) asam galat (*Sigma-Aldrich*), DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) (*Sigma-Aldrich*) dan Aquades.

Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian percobaan (experimental research) Rancangan penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan 2 Faktorial. Pertama perlakuan tingkat pertumbuhan daun yang terdiri dari 3 level ; pucuk daun, daun muda, daun tua dan jenis pelarut yang terdiri dari 3 pelarut yaitu air, etanol dan etil asetat, terdapat 9 kombinasi perlakuan. Percobaan dilakukan dengan 2 kali ulangan, sehingga terdapat 18 unit percobaan. Data yang diperoleh kemudian dianalisis dengan analisis ragam dan dilanjutkan dengan uji Duncan bila perlakuan berpengaruh. Bahan daun sembung diperoleh dari desa pecatu kabupaten Badung Provinsi Bali.

Metode Kerja

Penelitian ini diawali dengan pembuatan bubuk ekstrak daun sembung. Sampel daun sembung dipilih menjadi 3 bagian (pucuk, muda, tua) dibersihkan dari pengotor seperti debu dan tanah pada air mengalir. Sampel diangin anginkan untuk menghilangkan air dan selanjutnya dikeringkan selama 24 jam pada oven suhu 50°C hingga diperoleh sampel kering. Sampel kering dihaluskan menggunakan blender, kemudian diayak dengan ayakan 20 mesh sehingga diperoleh bubuk sampel atau simplisia.

Ekstraksi Sampel

Ekstraksi bubuk daun sembung pada penelitian ini menggunakan metode maserasi ekstraksi dingin. Serbuk daun sembung kering ditimbang masing-masing 10 gram dan ditambahkan pelarut dengan perbandingan bahan dan pelarut 1:10, selanjutnya didiamkan selama 1 x 24 jam. Selama proses maserasi dilakukan proses pengadukan selama 5 menit. Proses maserasi dilakukan dalam kondisi wadah tertutup rapat pada suhu ruang, setelah 1 x 24 jam larutan disaring kemudian filtrat yang diperoleh

diuapkan dengan *vacuum rotary evaporator* suhu 40°C kecepatan 100 rpm. Ekstrak kental yang diperoleh ditimbang untuk dihitung rendemen ekstraknya kemudian ditempatkan dalam botol, untuk selanjutnya dilakukan analisis flavonoid, total fenol, vitamin C, kapasitas antioksidan, aktivitas antioksidan dan uji GC-MS.

Penentuan rendemen

Ekstrak kasar hasil evaporasi ditimbang, selanjutnya dihitung rendemennya. Rendemen merupakan hasil bagi dari berat produk yang dihasilkan dibagi dengan berat bahan baku dikali 100% (AOAC, 1990). Rendemen yang didapatkan dihitung dengan rumus :

$$\text{Rendemen\%} = \text{Berat Ekstrak (g)} \div \text{Berat Simplisia} \times 100\%$$

Analisis Flavonoid(Rahman A *et al.*, 2006)

Sebanyak 0,05 gram sampel ekstrak kasar, diekstrak dengan 5 ml etanol 99,9%, dihomogenkan dan disentrifuge 3000 rpm selama 15 menit, hingga diperoleh supernatan. Supernatan disaring hingga diperoleh filtrat. Filtrat dipipet 0,5 ml ditempatkan pada tabung reaksi, ditambahkan 0,5 ml etanol dan 1,0 ml reagen $AlCl_3$ 2%, divortek hingga homogen dan didiamkan 30 menit pada suhu ruang sebelum dibaca serapan warnanya pada panjang gelombang 415 nm. Kurva standar dibuat dengan melarutkan quercetin dalam etanol 99,9% dengan berbagai konsentrasi 0-30 mgL^{-1} . Perhitungan flavonoid menggunakan rumus persamaan regresi $y = ax + b$.

Analisis Vitamin C (Sudarmadji *et al.*, 1989)

Ditimbang 1 gram bubuk sampel kemudian diekstraksi dengan aquades, hasilnya kemudian dimasukkan dalam labu ukur 50 ml, aquades ditambahkan kedalam labu ukur tersebut sampai volume mencapai 50 ml, lalu disaring dengan kertas saring.

Filtrat sebanyak 10 ml dimasukkan dalam labu Erlenmeyer 125 ml, kemudian ditambahkan 1 ml larutan amilum 1%. Larutan tersebut selanjutnya dititrasi dengan larutan iodine standar 0,01 N (1ml = 0.88 mg asam askorbat), sampai larutan berubah warna menjadi biru.

Analisis Polifenol (Sakanaka *et al.* 2003).

Sebanyak 0,05 gram sampel ekstrak kasar, diekstrak dengan 5 ml methanol 99,9%, dihomogenkan dan disentrifuge 3000 rpm selama 15 menit, hingga diperoleh supernatan. Supernatan disaring hingga diperoleh filtrat. Filtrat dipipet 0,4 ml ditempatkan pada tabung reaksi, ditambahkan 0,4 ml reagen *Folin-Ciocalteu*, divortek hingga homogen dan didiamkan 5 menit sebelum ditambahkan 4,2 ml 5% larutan *sodium* karbonat. Sampel didiamkan 30 menit pada suhu ruang sebelum dibaca serapan warnanya pada panjang gelombang 760 nm. Kurva standar dibuat dengan melarutkan asam galat dalam aquades dengan berbagai konsentrasi 10-100 mgL⁻¹. Perhitungan total fenol menggunakan rumus persamaan regresi $y = ax + b$.

Kapasitas Antioksidan (Chan *et al.*, 2007 dalam Almey *et al.*, 2010)

Pembuatan kurva standar asam galat dengan berbagai konsentrasi (0-2 mg/L). Perlakuan pada sampel dilakukan dengan menimbang 0,05 gr sampel, diencerkan dengan metanol 99.9% sampai volume 5 ml dalam labu takar, divortek, disentrifuge 3000 rpm 15 menit. Standar dan supernatan dipipet 0,5, ditambahkan 0,5 ml DPPH 0.1 mM (dalam pelarut metanol 99.9%) pada tabung reaksi, kemudian divorteks. Selanjutnya diikubasi pada suhu 25°C selama 30 menit untuk memberikan waktu bagi DPPH bereaksi dengan atom hidrogen yang

didonorkan oleh antioksidan sampel, diukur absorbansinya pada λ 517 nm. Kapasitas antioksidan dihitung dengan menggunakan rumus persamaan regresi linier $y = ax + b$.

Analisis IC 50%

Aktivitas antioksidan diukur dengan menentukan 50% nilai penghambatan (IC₅₀), dengan cara membuat beberapa konsentrasi sampel hasil ekstraksi, selanjutnya direaksikan dengan radikal DPPH 0,1 mM dan dibaca serapan warnanya pada panjang gelombang 517 nm. Nilai IC ditentukan dengan rumus :

$$\text{Indeks Penghambatan} = \frac{1 - \text{OD sampel}}{\text{OD control}} \times 100\%$$

Keterangan : OD = optical density (nilai absorbansi)

Selanjutnya dibuat grafik hubungan antara nilai IC (%) dan konsentrasi sampel (ppm), dengan membuat persamaan regresi linier $y = ax + b$, y diganti dengan angka 50, sehingga x adalah konsentrasi (ppm) dimana sampel memiliki kemampuan mereduksi radikal DPPH 0,1mM sebanyak 50%. Semakin kecil nilai IC menunjukkan bahwa semakin kuat dan besar kemampuan sampel sebagai antioksidan dalam melawan radikal bebas. Selain penentuan nilai IC (inhibitory concentration) 50%, untuk menyatakan bahwa antioksidan pada sampel termasuk lemah, sedang, kuat dan sangat kuat, perlu dilakukan perhitungan nilai AAI (*Antioxidant Activity Index*) dengan cara konsentrasi DPPH yang digunakan (40 ppm) dibagi dengan konsentrasi nilai IC 50% (ppm), dengan kriteria terlihat pada Tabel 1, pada perbandingan sampel dengan radikal bebas DPPH 0,1mM 1:1, dimana 1 bagian ekstrak sampel dan 1 bagian larutan radikal bebas DPPH 0,1mM.

Tabel 1. Nilai AAI dan katagori antioksidan

Nilai AAI	Katagori Antioksidan
AAI < 0,5	Lemah
AAI > 0,5 – 1,0	Sedang
AAI > 1,0 -2,0	Kuat
AAI > 2,0	Sangat Kuat

Analisis GC-MS

Analisis GC-MS dilakukan berdasarkan metode Erdem dan Olmez (2004). Gas pembawa yang digunakan adalah Helium, laju aliran 60 ml per menit, suhu injektor 270°C, suhu awal oven adalah 70°C, suhu akhir oven 270°C, dan laju kenaikan suhu 5°C/menit. Identifikasi senyawa dilakukan dengan bantuan computer menggunakan perangkat lunak NIST dan Wiley 8 library.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Preparasi Sampel

Sampel daun sembung dipilih menjadi 3 bagian (pucuk, muda, tua) dibersihkan dari pengotor seperti debu dan tanah pada air mengalir. Sampel diangin anginkan untuk menghilangkan air dan selanjutnya dikeringkan selama 24 jam pada oven suhu 50°C hingga diperoleh sampel kering. Sampel kering dihaluskan menggunakan blender, kemudian diayak dengan ayakan 20 mesh sehingga diperoleh serbuk sampel atau simplisia.

Pengeringan merupakan salah satu cara untuk mengurangi kadar air pada bahan. Kadar air yang berkurang pada sampel dapat

mempermudah penghancuran bahan menjadi serbuk untuk proses ekstraksi dan kerusakan dinding sel selama pengeringan akan mempermudah pengeluaran senyawa dalam bahan (Hernani dan Raharjo, 2005). Kusumati *et al.* (2018), melaporkan daun sembung segar memiliki kadar air 83,8112% . Hasil analisis kadar air daun sembung yang telah dikeringkan menunjukkan bahwa daun sembung pucuk memiliki kadar air sebesar 5,45% bb, daun sembung muda 5,10%bb, dan daun sembung tua 4.3%bb. Berdasarkan hasil kadar air tersebut diketahui bahwa simplisia memenuhi persyaratan kadar air dibawah 10% (Depkes RI, 1985). Penelitian Isnawati *et al* (2006), tentang standarisasi simplisia dan ekstrak etanol daun sembung dari Malang, Tawangmangu, dan Bogor melaporkan kadar air rata-rata pada rentang nilai 10,31% bk -13, 25% bk, sehingga bubuk daun sembung yang sudah dikeringkan dapat diekstraksi.

Rendemen

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan tingkat pertumbuhan daun dan jenis pelarut dan interaksi kedua perlakuan berpengaruh sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap rendemen ekstrak daun sembung. Tabel 2.

Tabel 2. Rata-rata rendemen ekstrak daun sembung (%)

Tingkat pertumbuhan	Pelarut		
	Air	Etanol	Etil Asetat
Daun Pucuk	9.17±0,89 b	6.57±0,56 cd	3.31±0,21 e
Muda	7.59±0,14 c	8.97±0,80 b	5.82±0,60 d
Tua	13.22±0,30 a	10.06±0,39 b	4.17 ±0,37e

Keterangan : Huruf yang berbeda di belakang nilai rata-rata menunjukkan perbedaan nyata pada uji beda Duncan 5%

Rendemen tertinggi pada perlakuan tingkat pertumbuhan daun tua 13,22% dengan jenis pelarut air, sedangkan nilai rendemen terendah pada perlakuan tingkat pertumbuhan pucuk daun dengan jenis pelarut etil asetat 3,31%. Tingginya rendemen pada pelarut air didasarkan pada sifat air yang merupakan pelarut universal dan mampu melarutkan berbagai analit .

Pemilihan metode ekstraksi dalam penelitian ini didasarkan atas sensitivitas senyawa antioksidan terhadap suhu yang tinggi, oleh karena itu dipilih metode maserasi, dimana metode ekstraksi ini dilakukan tanpa pemanasan serta dilakukan dalam suhu ruang. Prinsip ekstraksi dengan metode maserasi adalah terjadinya proses difusi larutan penyari ke dalam sel tumbuhan yang mengandung senyawa aktif. Difusi tersebut mengakibatkan tekanan osmosis dalam sel menjadi berbeda dengan keadaan di luar sel. Sehingga senyawa yang memiliki kepolaran yang sama dengan pelarut kemudian terdesak keluar karena adanya perbedaan tekanan osmosis di dalam sel dan di luar sel (Dean, 2009).

Penelitian Isnawati *et al.* (2006), yang mengekstrak daun sembung dari sumber berbeda Malang, Tawangmangu dan Bogor menyatakan bahwa persen rendemen yang diperoleh berkisar antara 17,00% - 21,2%

dengan 3-4x maserasi. Besar kecilnya rendemen ekstrak menunjukkan keefektifan proses ekstraksi. Efektivitas proses ekstraksi dipengaruhi oleh jenis pelarut yang digunakan sebagai penyari, ukuran partikel, metode dan lamanya ekstraksi. Soeksmanto (2010), menyatakan bahwa penggunaan pelarut yang berbeda tingkat kepolaran mempengaruhi jenis senyawa yang terekstrak..

Flavonoid

Komponen flavonoid merupakan kelompok senyawa non-volatil yang utama pada tanaman, senyawa golongan polifenol yang terdistribusi luas pada tumbuhan terdapat dalam bentuk bebas (aglikon) maupun terikat sebagai glikosida yang berikatan dengan suatu gula (Harborne, 1987).

Hasil analisis ragam ekstrak daun sembung terhadap senyawa flavonoid, menunjukkan bahwa kadar flavonoid ekstrak daun sembung pada tingkat pertumbuhan daun dan jenis pelarut yang berbeda dan interaksi kedua perlakuan menunjukkan pengaruh yang sangat nyata ($P < 0,01$). Kadar flavonoid rata-rata berkisar antara 0,68 mg QE/gbk sampai 204,59 mg QE/g bk, seperti tertera pada Tabel 3. berikut.

Tabel 3. Rata-rata Kadar Flavonoid Ekstrak daun sembung (mg QE/g bk)

Tingkat pertumbuhan	Pelarut		
	Air	Etanol	Etil asetat
Daun Pucuk	0,68±0,07 g	82,55±0,80 e	204,59±6,98 a
Muda	2,13±0,06 g	90,50±1,06 d	123,59±1,72 c
Tua	2,43±0,09 g	52,43±0,89 f	140,62±5,13 b

Keterangan : Huruf yang berbeda di belakang nilai rata-rata menunjukkan perbedaan nyata pada uji beda Duncan 5%

Tabel 3 diatas menunjukkan bahwa sampel pucuk daun sembung yang diekstrak dengan pelarut etil asetat memiliki total flavonoid tertinggi 204,59mg QE/g bk,

dibandingkan dengan tingkat pertumbuhan daun sembung dan dengan jenis pelarut lainnya. Hal yang sama dengan yang dilaporkan Pang *et al.*(2013), dimana kadar

flavonoid ekstrak daun sembung sebesar 208,6 mg/g, dan dinyatakan flavonoids, flavanone dan chalcone merupakan senyawa terbesar dari kelompok senyawa non-volatil pada tumbuhan sembung. Huang *et al.* (2006), menganalisis kadar flavonoid total pada beberapa bagian tumbuhan sembung, diperoleh bahwa komponen flavonoid tertinggi terdapat pada daun 2,94% , diikuti batang 1,36% dan cabang 1,21%.

Tingginya total flavonoid pada ekstrak pucuk daun sembung dengan pelarut etil asetat menjelaskan bahwa karakteristik senyawa flavonoid pada ekstrak pucuk daun sembung mempunyai kepolaran yang sama dengan etil asetat, sehingga ekstrak pucuk daun sembung dengan pelarut etil asetat

menghasilkan kandungan senyawa flavonoid tertinggi. Penelitian lainnya flavonoid jumlahnya banyak terakumulasi pada pucuk peko daun dan akan menurun seiring bertambahnya umur daun (Wang *et al.*, 2004).

Kadar Total Fenol (mg Galic Acid Equivalent [GAE]/ g sampel

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan tingkat pertumbuhan daun dan jenis pelarut serta interaksi kedua perlakuan terhadap kadar total fenolik ekstrak daun sembung berpengaruh sangat nyata ($P < 0,01$). Kadar total Fenolik rata-rata berkisar antara 9,31mg GAE/g bk sampai 225,33mg GAE/g bk, seperti tertera pada Tabel 4. berikut.

Tabel 4. Rata-rata Total Fenolik Ekstrak daun sembung (mg GAE/g bk)

Tingkat pertumbuhan	Pelarut		
	Air	Etanol	Etil Asetat
Daun Pucuk	9,31±0,35 g	105,23±5,32 e	225,33±4,57 a
Muda	10,98±0,38 g	135,31±0,15 d	144,91±5,61 c
Tua	13,66±0,45 g	81,95±5,13 f	164,20±4,88 b

Keterangan : Huruf yang berbeda di belakang nilai rata-rata menunjukkan perbedaan nyata pada uji beda Duncan 5%

Berdasarkan hasil tersebut diketahui kandungan total fenolik dari ekstrak daun sembung yang paling tinggi terdapat pada ekstrak etil asetat pada semua tingkatan daun baik dari pucuk daun sebesar 225,33mg GAE/g bk, daun muda 144,91mg GAE/g bk dan pada daun tua 164,20 mg GAE/g bk.

Huliselan *et al.* (2015) juga melaporkan bahwa dari hasil penelitian mengenai aktivitas antioksidan ekstrak etanol, etil asetat dan n-heksan dari daun sesewanua (*Clerodendron squamatum* Vahl.) kandungan total fenolik dari ekstrak daun sesewanua yang paling tinggi diperoleh dari ekstrak etil asetat (EEA) yaitu sebesar 0,3625 mg/g. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian ini, dimana kadar total fenol tertinggi pada ekstrak etil asetat dari semua tingkat pertumbuhan daun. Hasil yang tinggi pada pelarut etil asetat

dimungkinkan karena etil asetat merupakan pelarut semipolar, sehingga berbagai senyawa baik polar maupun nonpolar dapat tertarik kedalam pelarut.

Menurut Huang *et al.* (2005) tingginya kadar total fenol berbanding lurus dengan aktivitas antioksidan, semakin tinggi kandungan total fenol dalam suatu bahan semakin tinggi pula aktivitasnya sebagai antioksidan. Tingginya kandungan senyawa fenolik telah diketahui memiliki efek biologis seperti aktivitas antioksidan melalui mekanisme sebagai pereduksi, penangkap radikal bebas, peredam terbentuknya oksigen singlet serta pendonor elektron.

Vitamin C

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan tingkat pertumbuhan daun dengan

jenis pelarut yang berbeda serta interaksi kedua perlakuan berpengaruh yang sangat nyata ($P < 0,01$), terhadap Kadar Vitamin C ekstrak daun sembung . Kadar rata-rata

Vitamin C berkisar antara 38,09mg/g bk sampai 451,93 mg/g bk, seperti tertera pada Tabel 5. berikut.

Tabel 5 Rata-rata Kadar Vitamin C Ekstrak daun sembung (mg/g bk)

Tingkat pertumbuhan	Pelarut		
	Air	Etanol	Etil Asetat
Daun Pucuk	38,09±1,08 h	271,65±10,04 d	451,93±0,96 a
Muda	94,50±0,35 g	249,32±6,85 e	364,60±6,11 b
Tua	85,21±0,40 g	146,97±0,38 f	289,14±0,45 c

Keterangan : Huruf yang berbeda di belakang nilai rata-rata menunjukkan perbedaan nyata pada uji beda Duncan 5%

Kadar Vitamin C yang diperoleh paling tertinggi dari ekstrak daun sembung sebesar 451,93 mg/g bk diperoleh dari ekstrak bagian pucuk daun dengan pelarut etil asetat. Kadar Vitamin C ekstrak daun sembung dengan pelarut air diketahui tertinggi pada daun muda 94,50mg /g bk, dibandingkan dengan daun tua tidak berbeda nyata, tapi dengan pucuk daun berbeda nyata. Kadar Vitamin C pada pelarut etanol dan etil asetat memperlihatkan hasil yang berbeda nyata dari setiap sampel daun, tertinggi pada sampel pucuk daun baik dengan pelarut etanol 271,66 mg/g bk, maupun pada pelarut etil asetat. Hal ini menunjukkan kedua pelarut tersebut cukup baik dan potensial untuk mengekstraksi Vitamin C/asam askorbat.

Kadar Vitamin C daun sembung apabila

dibandingkan pada berbagai bahan pangan lain sesuai yang dilaporkan Iriyani *et al* .(2014) seperti sayuran sawi (3.290 µg/g bb, bayam organik 0.683 µg/g bb, kangkung organik 1.126 µg/g bb dan sawi organik 0.866 µg/g bb.

Kapasitas Antioksidan (mM Trolox[®] Equivalent Antioxidant Capacity/TEAC)

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan tingkat pertumbuhan daun dan jenis pelarut serta interaksi kedua perlakuan berpengaruh sangat nyata ($P < 0,01$), terhadap kapasitas antioksidan ekstrak daun sembung. Rata-rata berkisar antara 24,22mg GAEAC/g bk sampai 501,97mg GAEAC/g bk, seperti tertera pada Tabel 6.

Tabel 6. Rata-rata Kapasitas Antioksidan Ekstrak daun sembung (mg GAEAC/g bk)

Tingkat Pertumbuhan	Pelarut		
	Air	Etanol	Etil Asetat
Daun Pucuk	24,23±0,27 g	290,35±5,99 d	501,97±2,56 a
Muda	26,97±0,33 g	452,85±12,73 b	267,33±3,16 e
Tua	29,91±0,41 g	230,86±10,20 f	309,47±9,31 c

Keterangan : Huruf yang berbeda di belakang nilai rata-rata menunjukkan perbedaan nyata pada uji beda Duncan 5%

Kapasitas antioksidan ekstrak daun sembung dengan pelarut air pada semua

sampel daun sembung menunjukkan perbedaan yang tidak nyata, nilai tertinggi

pada ekstrak daun tua 29,91 mg GAEAC/g bk. Pada perlakuan dengan pelarut etanol kadar kapasitas antioksidan tertinggi pada sampel daun muda 452,85mg GAEAC/g bk berbeda nyata dengan sampel daun sembung yang lainnya, sedangkan kapasitas antioksidan ekstrak dengan pelarut etil asetat nilai tertinggi dari sampel pucuk daun 501,97mg GAEAC/ g bk dan menunjukkan perbedaan yang nyata dibandingkan dengan perlakuan lain, serta merupakan kadar tertinggi dari semua sampel daun sembung dengan jenis pelarut etanol dan air. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa yang berperan sebagai antioksidan pada bagian pucuk daun yang diekstrak dengan etil asetat lebih efektif dalam penghambatan radikal bebas DPPH. Hal ini serupa dengan hasil penelitian Mahardika dan Yoga (2012) terhadap daun

matoa yang melaporkan bahwa pada bagian pucuk daun segar mempunyai kapasitas antioksidan tertinggi.

IC₅₀

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan tingkat pertumbuhan daun dan jenis pelarut serta interaksi kedua perlakuan berpengaruh sangat nyata ($P < 0,01$), terhadap IC₅₀ ekstrak daun sembung. Nilai IC₅₀ terendah didapatkan dari pucuk daun dengan ekstrak etil asetat yaitu 37,09 ppm, seperti tertera pada Tabel 6 dibawah. Nilai IC₅₀ paling rendah ini memperlihatkan hubungan yang sesuai dengan kandungan tinggi flavonoid, total fenol, vitamin C, dan kapasitas antioksidan dari perlakuan yang diperoleh pada sampel pucuk daun yang diekstrak dengan etil asetat.

Tabel 6. Rata-rata nilai IC₅₀ ppm

Tingkat pertumbuhan	Pelarut		
	Air	Etanol	Etil Asetat
Daun Pucuk	953.57±27,21 a	66.09±0,25d	37.09±0,69d
Muda	852.80 ±23,47 b	38.69±1,30 d	71.50±0,37 d
Tua	533.95±39,53 c	76.27±1,74 d	50.14±0,90 d

Keterangan : Huruf yang berbeda di belakang nilai rata-rata menunjukkan perbedaan nyata pada uji beda Duncan 5%

Huliselan *et al.* (2015) dari penelitian mengenai aktivitas antioksidan ekstrak etanol, etil asetat, dan n-Heksan dari daun sesewanua (*Clerodendron squamatum vahl.*) melaporkan bahwa ekstrak etil asetat daun sesewanua memiliki aktivitas antioksidan tertinggi dengan nilai IC₅₀ sebesar 13,084 ppm. Ekstrak etil asetat memberikan pengaruh efektifitas yang tinggi sebagai antioksidan terhadap radikal 2,2 diphenyl-1-picrylhydrazil (DPPH). Keefektifan antioksidan pada ekstrak etil asetat dalam menetralkan radikal bebas diduga berkaitan dengan sifat etil asetat yang semi polar sehingga banyak komponen bioaktif yang larut didalamnya.

Pratiwi *et al.* (2016) dalam penelitian

fraksi etil asetat kulit manggis (*Garcinia mangostana L.*). Berdasarkan nilai IC₅₀ diketahui bahwa ekstrak etil asetat kulit manggis memiliki persentase penghambatan terhadap radikal bebas yang cukup besar dalam rentang 46,67-90,47% dan memiliki nilai IC₅₀ sebesar 41,46 ppm, merupakan antioksidan yang sangat kuat, yang artinya aktivitas antioksidan fraksi etil asetat paling tinggi dibandingkan aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol, fraksi n-heksan dan residu.

Berdasarkan hasil penelitian nilai IC₅₀ ekstrak etil asetat pucuk daun sembung dengan kadar 37,09 ppm, jika dibandingkan dengan standar AAI nilai IC₅₀ ekstrak etil asetat pada pucuk daun sembung adalah 1,06

termasuk dalam kategori antioksidan yang kuat. Kriteria nilai AAI dan katagori antioksidan (Vasic *et al* 2012). Nilai AAI < 0,5 katagori antioksidan lemah, AAI > 0,5 - 1,0 katagori antioksidan sedang, AAI > 1,0-2,0 katagori antioksidan kuat, AAI > 2,0 katagori antioksidan sangat kuat.

Analisis GC-MS (Gas Chromatography – Mass Spektrofotometri)

Minyak atsiri sembung berupa cairan kuning berminyak dengan aroma yang unik, kebanyakan didapatkan di daun dan cabang (Bhuiyan, 2009) dari bagian daunnya didapatkan sekitar 50 komponen senyawa yang berkontribusi hampir 99.07% dari total minyak atsiri tumbuhan sembung. Komponen senyawa yang dominan dari bagian daun adalah borneol (33.22%), caryophyllene (8.24%),

Dari hasil uji GCMS ekstrak pucuk daun sembung dengan pelarut etil asetat mampu diisolasi beberapa senyawa volatil hingga 38 jenis senyawa, beberapa senyawa berikut yang memperlihatkan kemiripan diatas 95%

dibandingkan dengan NIST lybrary adalah beberapa golongan senyawa Benzena (P-Xylene, Cyclohexane) Golongan Monoterpenes (Camphor, L-Borneol) Golongan Sesquiterpena (alpha-Guaiene, Caryophyllene, 1,4,7-Cycloundecatriene, 1.5.9.9-tetramethyl-,z,z,z-humulene) dan Golongan senyawa Diterpena (Neophytadiene). Pang *et al.* (2014) dalam laporannya menyatakan sebagian besar senyawa volatil sembung adalah terpenoids, fatty acids, phenols, alcohol, aldehydes, ethers, keton, pyridin, furan dan alkana, dan yang terpenting senyawa kapor, borneol dan caryophyllene merupakan senyawa khas dari daun sembung dengan aromanya yang unik. Bhuiyan *et al.* (2009) juga melaporkan dari Indian Materia Medica (Nadkarni 1976) bahwa senyawa-senyawa seperti borneol dan caryophyllene pada daun sembung merupakan senyawa penting yang mempunyai kegunaan pengobatan dalam system pengobatan Ayurvedic.

Tabel. 5. Hasil analisis GCMS ekstrak etil asetat pucuk daun sembung

No	Waktu Retensi	Luas Area	Nama senyawa	Rumus molekul	Golongan senyawa	(SI)
1.	6.196	0.027	-P-xylene-Benzene,1-3-dimethyl	C ₈ H ₁₀	Benzena	95
2.	10.941	0.028	Bicyclo [2,2,1] heptan-2-one,1,7,7-trimethyl-,(1s) Camphor (+)-2-Bornanone	C ₁₀ H ₁₆ O	Monoterpenes	97
3.	11.269	0.028	Bicyclo [2.2.1] heptan-2-ol,1.7.7-trimethyl-(1s-endo)-Borneol	C ₁₀ H ₁₈ O	Monoterpenes	97
4.	14.243	0.037	Alpha-Guaiene	C ₁₅ H ₂₄ O	sesquiterpene	95
5.	14.854	0.031	1-ethenyl-1-methyl-2,4-bis (1-methyl ethenyl)-,(1.alpha, 2 beta, 4 beta)-Cyclohexane	C ₆ H ₁₂	Benzena	96
6.	15.423	0.029	-Bycyclo [C7.2.0] undec-4-ene 4.11.11-trimethyl-8-methylene-[1R-(1R*4Z,95*)]Caryophyllene	C ₁₅ H ₂₄	Sesquiterpene	99 98
7.	15.918	0.029	1,4,7.-Cycloundecatriene,1.5.9.9-tetramethyl-,Z,Z,Z –Humulene	C ₁₅ H ₂₄	Sesquiterpene	97
8.	18.657	0.042	Neointermedeol (Elemol)	C ₁₅ H ₂₆ O	Sesquiterpene	96
9.	20.36	0.036	Neophytadiene	C ₂₀ H ₃₈	Diterpenes	95

Berdasarkan beberapa hasil penelitian melaporkan bahwa daun sembung memiliki khasiat sebagai anti radang, memperlancar peredaran darah, mematikan pertumbuhan bakteri dan menghangatkan badan (Ali *et al.*, 2005) Di China dikenal dengan nama *Bing pian's* yang berfungsi sebagai anti-inflammasi dan analgesik. mengurangi kesakitan otot dan sendi, membantu membersihkan darah beku, dan mencegah perkembangan kuman (Choi 2003; Duke 2005). Beta-Caryophyllene berat molekul 204,357 g/mol dengan struktur molekul $C_{15}H_{24}$, merupakan agen anti-inflamasi yang bersifat non-steroid, berfungsi anti-inflamasi, analgesik, antipiretik, dan penghambatan trombosit, system kerjanya memblokir sintesis prostaglandin dengan menghambat siklooksigenase, yang mengubah asam arakidonat menjadi endoperoksida siklik, prekursor prostaglandin. Penghambatan sintesis prostaglandin inilah yang membuat berperan sebagai analgesik, antipiretik, dan penghambatan terjadinya trombosit

KESIMPULAN

- Hasil penelitian menunjukkan tingkat pertumbuhan daun dan jenis pelarut berpengaruh sangat nyata terhadap rendemen, flavonoid, total fenol, vitamin C, kapasitas antioksidan dan aktivitas antioksidan.
- Ekstrak terbaik diperoleh dari pucuk daun sembung dengan pelarut etil asetat memiliki kandungan flavonoid tertinggi 204,58 mg QE/g bk, total fenolik tertinggi 225,33 mg GAE/g bk, kandungan vitamin C tertinggi 451,92 mg/g bk, kapasitas antioksidan tertinggi 501,97 mg GAEAC/g bk, dan IC50 terendah 37,09 ppm, dibandingkan dengan standar AAI 1,06 merupakan kategori aktivitas antioksidan yang kuat.
- Senyawa yang diduga terkandung dalam ekstrak etil asetat pucuk daun sembung adalah senyawa Benzena (P-Xylene, Cyclohexane) Golongan Monoterpenes (Camphor, L-Borneol) Golongan Seskuiterpena (alpha-Guaiene, Caryophyllene, 1,4,7-Cycloundecatriene, 1.5.9.9-tetramethyl-, z,z,z-humulene) dan Golongan senyawa Diterpena (Neophytadiene).

DAFTAR PUSTAKA

- Ali, D.M.H., K.C. Wong., and P.K. Lim. 2010. Flavonoids from *Blumea balsamifera*. *Fitoterapia*. 76 : 128–130.
- AOAC. 2005. *Official Methods of Analysis of The Association of Analytical chemists* Washington D.C.
- Bhuiyan, N.I., J.U Chowdhury., J Begum. 2009. Chemical constituents in *Blumea balsamifera* (L.) DC. *Bangladesh J. Botany*, 38 (1): 107-109.
- Choi HS. 2003. Character impact odorants of citrus hallabong [(*C. unshiu* Marcov x *C. sinensis* Osbeck) x *C. reticulate* Blanco] cold-pressed peel oil. *J Agric Food Chem* 51:2687-2692.
- Dean, J, 2009. *Extraction Techniques In Analytical Science*. London: John Wiley And Sons LTD.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2017. *Formularium Ramuan Obat Tradisional Indonesia*.
- Hernani dan M. Raharjo . 2005. *Tanaman Berkhasiat Antioksidan*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Harborne, J.B.1987. *Metode Fitokimia*. Edisi ke-2. Padmawinata K, Soediro I, penerjemah. Bandung; Institut Teknologi Bandung. Terjemahan dari : *Phytochemical Methods*.
- Huang, D., B Ou ., R.L Prior . 2005. The Chemistry Behind Antioxidant Capacity Assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 54 (2): 1841-185.

- Huang YL, Zhao ZG, Wen YX .2006. Determination of total flavonoid in different sections of *Blumea balsamifera*. *Guihaia*, 26:453-455.
- Huliselan Y. M., R.J Runtuwene Max ., D.S Wewengkang . 2015. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol, Etil Asestat, Dan n-Heksan Dari Daun Sesewanua (*Clerodendron squamatum* vahl.). *Pharmakon Jurnal ilmiah farmasi-UNSRAT*. 4(3):155-159
- Iriyani D., N Pangesti ., 2014. Kandungan Klorofil, Karotenoid, Dan Vitamin C beberapa jenis Sayuran Daun Pada Pertanian Periurban di Kota Surabaya. *Jurnal Matematika, Sains, dan Teknologi*. 15 (2) :84-90
- Isnawati A., R Mariana ., A Sukmayati . 2006. Standarisasi Simplisia Dan Ekstrak Etanol Daun Sembung (*Blumea balsamifera* (L) Dari Tiga Tempat Tumbuh. *Media Litbang Kesehatan*. XVI (2) :1-6
- Kusumawati IGAW., IBA Yogeswara., dan NMI Sugiantari., dan IG Ariyasa., 2018. Identifikasi Asam-Aminobutirat pada Loloh Sembung (*Blumea balsamifera*) Sebagai Minuman Fungsional yang Berpotensi Sebagai Antihipertensi. *Tradisional Medicine Journal*., January-April 2018. 23 (1), 23-29.
- Mahardika P.M., dan W. Yoga. 2012. Kapasitas Antioksidan (*Pomitea pinnata*). *Laboratorium Fakultas Teknologi Pertanian*. Universitas Udayana. Denpasar
- Pang Y and Dan Wang,. 2014. *Blumea balsamifera* —A Phytochemical and Pharmacological . *International Journal of Molecular Sciences Tropical Crops Genetic Resources Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Danzhou, Hainan , China*.
- Pratiwi, M., M. Suzery., and B. Cahyono. 2010. Total Fenolat dan Flavonoid Dari Ekstrak dan Fraksi Daun Kumis Kucing (*Orthosiphon stamineus* B.) Jawa Tengah Serta Antioksidannya. *Universitas Diponegoro, jurnal Sains* 18(1) :140-148
- Soeksmanto, 2010, Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa* scheff Boerl Thymelaceae), *Biodiversita*, 8(2): 92-95
- Sudarmadji, S., B. Haryono dan Suhardi., 1997. *Prosedur Analisis untuk Bahan Makanan dan Pertanian*. Penerbit Liberty, Yogyakarta.
- Suweta, I M. 2013. *Ecolinguistics Approach in Preservation Rare Plants Growing in Bali*. *International Journal of Linguistics*, 5 (1) : 283-295.
- Suryadarma IGP. 2005. *Konsepsi Kosmologi dalam Pengobatan Usada Taru Pramana*.. *Journal of Tropical Ethnobiology* 2(1) . LIPI. Bogor
- Wang R., Zhouw. 2004. Stability of Tea Cateching In The Bread Making Process. *Journal Agric Food Chem*. Dec 29:52 (26) 8224-9.
- Yang, D., Y Liu., M.Sun., L.Zhao., Y Wang., X Chen., T Xia. (2012). Differential gene expression in tea (*Camellia sinensis* L.) calli with different morphologies and catechin contents. *J. Plant Physiol.*, 169:163-175.