

UJI ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL DAUN JAWER KOTOK (*Coleus atropurpureus* L. Benth) SECARA IN VITRO

F.X. Haryanto Susanto^{1*}, Aqidatun Naffiah Choirunniza², Dara Loviana Subagyo³, Michael Resta Surya Yanuar³

¹Program Studi Pendidikan Profesi Apoteker, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Ma Chung, Villa Puncak Tidar Blok N no. 1, Malang, Indonesia, 65151

²Program Magister Kimia, Universitas Brawijaya, Jl. Veteran, Malang, Indonesia, 65145

³Program Studi Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Ma Chung

*Korespondensi: haryanto.susanto@machung.ac.id

ABSTRAK

Penyakit degeneratif merupakan gangguan kesehatan yang disebabkan oleh akumulasi radikal bebas berlebih dalam tubuh. Radikal bebas yang bersifat reaktif terhadap sel dan jaringan menyebabkan penurunan fungsi secara bertahap. Kurangnya jumlah antioksidan endogen untuk menetralkan radikal bebas mendorong perlunya ada tambahan antioksidan eksogen. Jawer kotok (*Coleus atropurpureus* L. Benth), terutama dalam hal ini pada bagian daun diketahui berpotensi sebagai sumber antioksidan alami. Tujuan dilaksanakannya studi ini untuk mengevaluasi kinerja antioksidan ekstrak etanol daun jawer kotok secara in vitro menggunakan metode peredaman radikal bebas dengan DPPH dan kapasitas antioksidan dengan FRAP. Ekstraksi dilakukan melalui metode maserasi dengan perbandingan pelarut dan sampel adalah 3 : 1 untuk memperoleh rendemen ekstrak yang kemudian diuji aktivitas antioksidannya. Hasil uji DPPH menggambarkan bahwa ekstrak dikategorikan memiliki aktivitas antioksidan tinggi dengan nilai IC₅₀ > 60 ppm. Uji FRAP menunjukkan nilai rata-rata 160,043 mg AAE/g ekstrak, yang mengindikasikan kapasitas reduksi yang baik. Dengan demikian, ekstrak etanol daun jawer kotok potensial dimanfaatkan sebagai sumber antioksidan alami berdasarkan evaluasi uji DPPH dan FRAP yang diperoleh.

Kata kunci: antioksidan, *Coleus atropurpureus* L. Benth, in vitro

ABSTRACT

Degenerative diseases are health disorders caused by the accumulation of excess free radicals in the body. Free radicals that are reactive to cells and tissues cause a gradual decline in function. The lack of endogenous antioxidants to neutralize free radicals encourages the need for additional exogenous antioxidants. Jawer kotok (*Coleus atropurpureus* L. Benth), especially in this case in the leaves, is known to have the potential as a source of natural antioxidants. The purpose of this study was to turn on the antioxidant performance of ethanol extract of jawer kotok leaves in vitro using the free radical reduction method with DPPH and antioxidant capacity with FRAP. Extraction was carried out through the maceration method with a solvent and sample ratio of 3: 1 to obtain an extract yield which was then tested for antioxidant activity. The results of the DPPH test illustrate that the extraction extract has high antioxidant activity with an IC₅₀ value > 60 ppm. The FRAP test showed an average value of 160.043 mg AAE / g extract, which indicates good reduction capacity. Thus, the ethanol extract of jawer kotok leaves has the potential to be used as a source of natural antioxidants based on the evaluation of the DPPH and FRAP tests obtained.

Keywords: antioxidants, *Coleus atropurpureus* L. Benth, in vitro

PENDAHULUAN

Kehidupan zaman sekarang memiliki pola yang kurang sehat sehingga menimbulkan bermacam-macam gangguan kesehatan yang disebabkan oleh radikal bebas. Gangguan kesehatan yang timbul akibat adanya radikal bebas yang berlebihan di dalam tubuh adalah penyakit degeneratif [1]. Radikal bebas dapat diartikan sebagai molekul yang mengandung satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan. Jumlah elektron yang ada di dalamnya berjumlah

ganjil, sehingga membuatnya sangat reaktif. Sifat reaktif yang cukup tinggi ini dapat mengisolasi elektron senyawa-senyawa lain agar mencapai kestabilan yang tinggi. Kerusakan sel hidup terjadi akibat rangkaian reaksi berantai setelah hilangnya electron dari molekul yang ada akibat diserang oleh elektron bebas dari senyawa radikal [2]. Solusi dari hal ini adalah perlunya suatu senyawa dalam tubuh yang bertindak sebagai penghambat terbentuknya radikal bebas berlebih, yaitu senyawa antioksidan.

Cara kerja antioksidan adalah dengan menangkap radikal bebas dan menghentikan reaksi yang dapat merusak sel tubuh. Berdasarkan tempat produksinya, antioksidan terklasifikasikan menjadi dua jenis, yaitu antioksidan endogen yang diproduksi secara alami oleh tubuh dan antioksidan eksogen yang diperoleh dari luar tubuh. Antioksidan eksogen terbagi kembali menjadi dua jenis berdasarkan cara memperolehnya, yaitu antioksidan alami dan antioksidan sintetik [3].

Saat ini, banyak produk di pasaran menggunakan antioksidan sintetik seperti BHA (*Butylated Hydroxyanisole*), BHT (*Butylated Hydroxytoluene*), propilgallat, dan etoksiquin baik digunakan dalam produk makanan, minuman, bahkan kosmetika. Meskipun efektif, penggunaan antioksidan sintetik jangka panjang telah dikaitkan dengan potensi efek samping. Penggunaan BHA dan BHT dalam produk makanan dan kosmetik telah dikaitkan dengan efek samping serius, termasuk alergi kulit, pertumbuhan tumor, dan peningkatan berat relatif organ hati akibat sifat karsinogeniknya jika dikonsumsi dalam jangka panjang dan dosis berlebihan. Untuk meminimalkan risiko tersebut, penggunaannya dibatasi oleh otoritas kesehatan. *Food and Drug Administration* (FDA) menetapkan batas maksimum BHA dan BHT dalam produk yang mengandung minyak dan lemak sebesar 0,02%, sementara *The Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives* (JECFA) merekomendasikan dosis harian yang dapat diterima sebesar 0,05–0,2 mg/kg berat badan [4, 5]. Kondisi ini mendorong perlunya pencarian sumber antioksidan alami yang lebih aman dan tetap efektif.

Disisi lain, antioksidan alami didapatkan dari tumbuh-tumbuhan, sayur-sayuran dan buah-buahan dianggap lebih aman. Salah satu tanaman yang mengandung antioksidan adalah tanaman jawer kotok. Jawer kotok dengan nama latin *Coleus atropurpureus* L. Benth merupakan salah satu spesies tumbuhan berbunga dari keluarga Lamiaceae, yang berasal dari benua Asia dan termasuk tanaman yang banyak ditanam di Indonesia. Jawer kotok biasa dikenali oleh orang awam dengan nama iler atau miana. Tumbuhan ini tumbuh pada tanah yang kering atau lembab dengan karakteristik tinggi yang berkisar 0,5 – 1 meter meskipun beberapa temuan bisa tumbuh hingga 2 meter. Pemanfaatan tanaman ini sering digunakan sebagai tanaman hias dan ditemukan pula dalam beberapa pengobatan tradisional [6]. Potensi antioksidan daun jawer kotok telah dilaporkan pada penelitian yang telah dilaporkan mengenai ekstrak daun miana yang diketahui mengandung flavonoid. Antioksidan yang didapatkan juga cukup tinggi dimana IC50 yang dimiliki pada ekstrak etanolnya yaitu sebesar 48,04 ppm [7]. Selain itu jawer kotok diketahui memiliki kandungan betaine sebagai senyawa antioksidan. Betaine, atau trimetilglisin,

merupakan senyawa alami yang tersebar luas pada berbagai sumber seperti tanaman, hewan, serta mikroorganisme. Selain perannya yang penting sebagai donor gugus metil dalam proses metabolisme tubuh, betaine juga diketahui memiliki aktivitas antioksidan yang mampu melindungi sel dari kerusakan oksidatif [8].

Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengetahui kandungan dan potensi antioksidan dari jawer kotok menggunakan metode *in vitro* dari metabolit sekunder yang dihasilkan oleh ekstrak etanol jawer kotok melalui pengujian metode peredaman radikal bebas dengan DPPH dan kapasitas antioksidan FRAP dengan asam askorbat sebagai pembanding.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan pada bulan Mei hingga bulan Agustus 2024 di Laboratorium Farmasi Universitas Ma Chung. Jenis penelitian yang dirancang pada penelitian ini adalah penelitian *experimental* untuk mengevaluasi aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol daun jawer kotok menggunakan metode DPPH dan FRAP dengan asam askorbat sebagai pembanding. Adapun bagan alur penelitian ditampilkan pada Gambar 1.

Bahan : Bahan-bahan yang diperlukan dalam penelitian yaitu isolat daun jawer kotok, dan bahan-bahan kimia dengan *grade* pro analisis dari Merck meliputi DPPH, metanol, etanol, FeCl₃, HCl, KH₂PO₄, K₃(CN)₆, NaOH, TCA, Asam Oksalat, dan aquadest.

Alat : Alat-alat penunjang jalannya penelitian ini meliputi Spektrofotometer UV-Vis (Jasco V-760), kuvet, alat-alat gelas (Pyrex), aluminium foil, pipet tetes, mikropipet (Socorex), oven, stoples, waterbath, vial, dan botol gelap.

Metode

Determinasi Daun Jawer Kotok

Determinasi daun jawer kotok dilakukan di UPT Laboratorium Herbal Materia Medica Batu yang berlokasi di Jalan Lahor, Pesanggrahan, Kota Batu. Proses determinasi ini dimaksudkan untuk menjamin secara akurat identitas dari tanaman yang digunakan dalam penelitian.

Preparasi Sampel

Preparasi sampel dilakukan dengan ekstraksi melalui metode maserasi dengan perbandingan serbuk dan pelarut adalah 1 : 3. Pelarut yang digunakan pada tahap ekstraksi daun jawer kotok adalah etanol 96%. Serbuk daun jawer kotok ditimbang sebanyak 500 mg dan diberi pelarut etanol sebanyak 1,5 liter dalam toples kaca hingga seluruh

serbuk terendam yang selanjutnya dilakukan sonikasi selama 30 menit. Setelah sonikasi selesai didiamkan selama tiga hari dalam tempat gelap dengan pengadukan tiap 24 jam. Hasil maserasi kemudian disaring yang kemudian campuran tersebut dievaporasi menggunakan *waterbath* dengan suhu 50° hingga seluruh etanol 96% menguap dan didapatkan hasil ekstrak kental.

Uji DPPH

Uji aktivitas antioksidan metode DPPH dilakukan dengan cara 10 mg ekstrak kental ditimbang lalu dilarutkan dengan methanol p.a untuk membuat konsentrasi 100 ppm. Setelah itu, larutan diencerkan menjadi beberapa konsentrasi yaitu 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm, 50 ppm, dan 60 ppm yang masing masing konsentrasi dibuat tiga kali pengulangan (triplo) [9]. Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan instrumen spektrofotometer UV-Vis. Tiap larutan sampel dan larutan perbandingan asam askorbat diambil sebanyak 1 ml dan ditambahkan dengan 2 ml larutan DPPH. Larutan kemudian dipindahkan ke dalam vial yang sudah dibungkus dengan aluminium foil, dilanjutkan dengan proses inkubasi selama 30 menit dihitung sejak penambahan larutan DPPH pada sampel yang dilakukan pada masing-masing konsentrasi. Serapan pada panjang gelombang maksimum kemudian diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada rentang panjang gelombang visibel [10]. Perhitungan IC50 dapat dihitung dari kurva regresi konsentrasi vs %inhibisi yang diperoleh dengan rumus sebagai berikut:

$$\%Inhibisi = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100$$

$$IC50 = \frac{(50 - a)}{b}$$

Dimana : A_0 = Absorbansi kontrol (tanpa sampel)
 A_1 = Absorbansi sampel
 b = intersep
 a = koefisien regresi

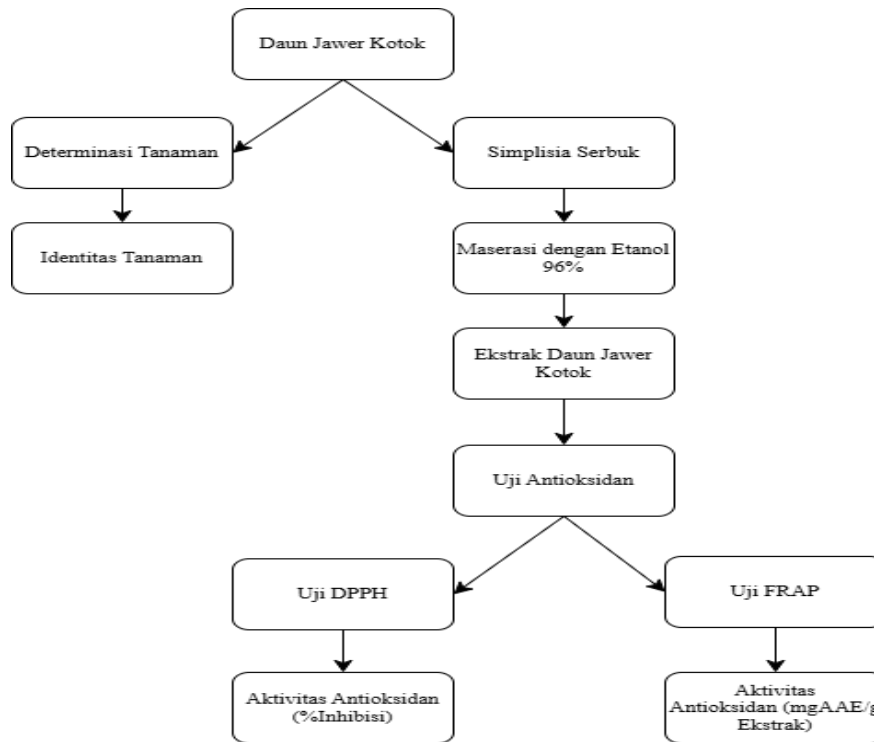
Uji FRAP

Pengukuran absorbansi ekstrak daun jawer kotok untuk uji FRAP dimulai dengan melarutkan 5 mg ekstrak kental dalam 5 ml etanol 96%, proses ini direplikasi sebanyak tiga kali untuk memastikan hasil yang akurat. Kemudian, 5 ml ekstrak dicampur

dengan 1 ml larutan dapar fosfat. Pembuatan dapar fosfat yaitu melarutkan 2 g NaOH dan 6,8 g KH_2PO_4 dengan aquades dalam labu 250 ml, kemudian pH larutan diukur dan disesuaikan hingga pH mencapai pH 6 yang dimaksudkan untuk memudahkan proses reduksi Fe^{3+} . Setelah itu, larutan ekstrak yang sudah dicampur dengan larutan dapar ditambahkan larutan $K_3Fe(CN)_6$ sejumlah 1 mL. Pembuatan $K_3Fe(CN)_6$ dilakukan seberat 1 g kalium ferrisianida, lalu dilarutkan dalam aquades hingga volume mencapai 100 mL di labu takar. Larutan diinkubasi pada suhu 50 °C selama 20 menit untuk memastikan reaksi kompleks terjadi dengan baik. Kemudian. Setelah dilakukan inkubasi selama 20 menit, larutan akan mendapatkan penambahan 10% asam trikloroasetat (TCA) dan disentrifugasi pada kecepatan 3000 rpm selama 10 menit untuk melarutkan kompleks yang mengendap. Hasil lapisan atas dari sentrifugasi diambil 1 mL larutan kemudian ditambahkan aquades dan $FeCl_3$ 0,1% untuk membentuk kompleks yang berwarna hijau hingga biru. Adapun preparasi larutan $FeCl_3$ dilakukan dengan melarutkan 0,1 g $FeCl_3$ dalam *aquades*, kemudian larutan didiamkan selama 20 menit bertujuan untuk memberikan waktu bagi senyawa antioksidan untuk mereduksi Fe^{3+} , dengan buffer fosfat pH 6,6 untuk menjaga kestabilan kompleks pada pH asam. Larutan yang telah dihomogenkan tersebut kemudian dibiarkan dengan durasi 10 menit pada suhu ruang dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum dalam rentang 400 – 800 nm untuk memastikan akurasi dalam pengukuran. Blanko yang digunakan dalam spektrokopi uji FRAP adalah etanol 96% [11, 12]. Berdasarkan proses tersebut, aktivitas antioksidan dapat dihitung dengan menggunakan persamaan garis linear, di mana absorbansi menjadi variabel x dan konsentrasi sebagai variabel y. Nilai FRAP nantinya dinyatakan dalam mg ekuivalen asam askorbat/gram ekstrak yang dapat dihitung dengan persamaan kurva kalibrasi vitamin C yang perhitungannya mengikuti rumus berikut:

$$Y = bx + c$$

Dimana: Y = absorbansi sampel yang diukur
 x = konsentrasi asam askorbat ekuivalen (mg AAE/g)
 b = kemiringan garis regresi
 c = intersep



Gambar 1. Alur Penelitian

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Determinasi Tanaman

Sebelum penelitian dilakukan, tahap awal dilakukan uji determinasi terhadap daun jawer kotok yang akan diuji. Memastikan secara akurat identitas tanaman yang akan digunakan dalam penelitian merupakan tujuan dari proses determinasi. Dengan melakukan identifikasi yang tepat, dapat dipastikan bahwa tanaman yang diteliti benar-benar sesuai dengan spesies yang dituju, sehingga hasil penelitian dapat dipertanggungjawabkan secara ilmiah. Selain itu, determinasi juga berfungsi untuk mencegah terjadinya kesalahan dalam pengambilan sampel, yang bisa berdampak pada hasil analisis. Kesalahan dalam identifikasi atau pengambilan sampel dapat menyebabkan hasil penelitian yang tidak valid, oleh karena itu, penetapan identitas tanaman menjadi hal penting dalam proses penelitian ini [13]. Determinasi daun jawer kotok dilakukan di UPT Laboratorium Herbal Materia Medica Batu yang berlokasi di Kota Batu. Hasil determinasi dengan nomor 000.9.3/2641/102.20/2024 didapatkan kunci determinasi jawer kotok adalah 1b-2b-3b-4b-6b-7b-9b-106-116-12b-13b-14b-16a-2396-243b-244b-2486-249b-250b-266b-267b-273b-276b-278b-279b-2828: Labiatae-la-2a-4b-6b-7a: Coleus-7: *C. scutellarioides*. yang menyatakan bahwa tanaman yang diteliti adalah *Coleus atropurpureus* Benth. = *Coleus scutellarioides* (L.) Benth.

Hasil Ekstraksi

Menarik komponen-komponen kimia yang berada pada simplisia daun jawer kotok adalah tujuan dari proses ekstraksi pada penelitian ini. Prinsip utama yang mendasari ekstraksi adalah prinsip perpindahan masa, di mana komponen zat terlarut dipindahkan ke dalam pelarut yang sesuai. Metode yang digunakan adalah metode maserasi dengan alasan kesederhanaannya dan karena tidak memerlukan peralatan kompleks [14]. Proses ekstraksi sangat dipengaruhi oleh sifat zat terlarut itu sendiri dimana akan lebih mudah larut dalam pelarut yang memiliki sifat serupa “*like dissolves like*” [15]. Pemilihan pelarut dalam ekstraksi sangat penting karena akan menentukan senyawa apa yang akan terekstrak. Pemilihan pelarut etanol pada penelitian ini didasari pada kemampuan etanol dalam melarutkan senyawa metabolit sekunder yang bersifat polar dimana flavonoid juga diketahui sebagai senyawa yang cenderung polar dengan keberadaan gugus hidroksil (–OH) yang nantinya juga akan berperan sebagai pendonor atom hidrogen pada proses penghambatan radikal bebas [16–18]. Selain itu tujuan dilakukannya sonikasi pada proses ekstraksi adalah untuk mempercepat proses ekstraksi karena sonikasi menghasilkan gelombang suara frekuensi tinggi yang menciptakan getaran yang dapat mempercepat difusi zat terlarut dari sel-sel tanaman ke dalam pelarut [19].

Ekstraksi 1,5 kg serbuk simplisia daun jawer kotok menghasilkan rendemen sebesar 1,670%. Nilai ini tergolong rendah, mengingat rendemen ekstrak yang dianggap baik umumnya berada di atas 10% [20]. Jika dibandingkan dengan target senyawa yang disasar, yaitu antioksidan seperti flavonoid dan betaine, nilai rendemen ini menunjukkan bahwa hanya sebagian kecil komponen aktif yang berhasil terisolasi ke dalam ekstrak. Rendahnya rendemen dapat disebabkan oleh faktor-faktor seperti jenis pelarut [14], metode ekstraksi [21], durasi ekstraksi [22], serta kandungan senyawa aktif dalam daun jawer kotok itu sendiri. Dengan demikian, hasil ini menunjukkan bahwa meskipun ekstrak berhasil diperoleh, efisiensi ekstraksinya masih perlu ditingkatkan agar kandungan senyawa aktif yang dihasilkan lebih optimal.

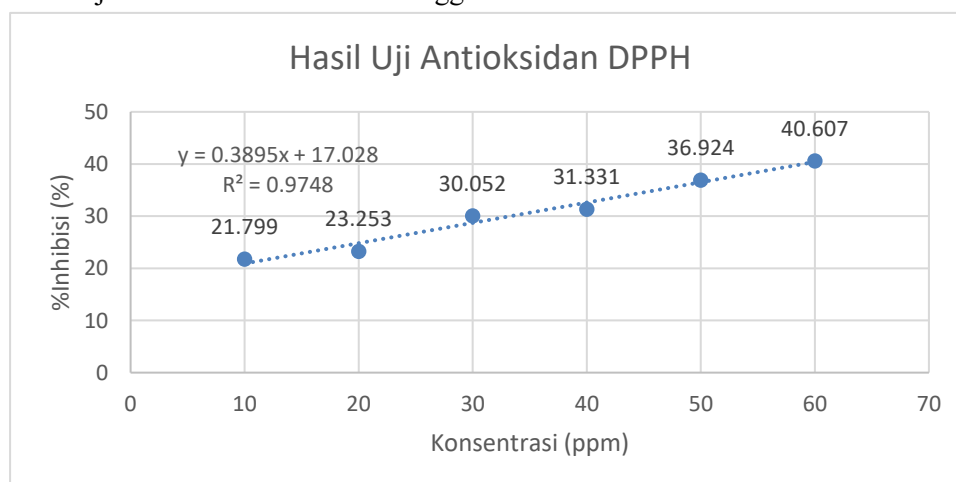
Hasil Uji DPPH

Metode pengujian aktivitas antioksidan menggunakan 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil atau DPPH dipilih karena merupakan metode yang sederhana, praktis, cepat dan sensitif. Selain itu, metode ini hanya memerlukan jumlah sampel yang sedikit untuk menganalisis aktivitas antioksidan dari senyawa yang berasal dari bahan alam. DPPH merupakan radikal bebas yang memiliki struktur elektron yang tidak berpasangan pada strukturnya sehingga dapat digunakan untuk pengujian aktivitas antioksidan suatu senyawa. Pengujian ini bekerja dengan mengamati apakah senyawa uji mampu mendonorkan elektron atom hidrogen untuk menetralkan radikal bebas. Ketika senyawa tersebut mendonorkan atom hidrogen, intensitas warna ungu pada larutan DPPH akan berkurang, menunjukkan adanya aktivitas antioksidan. Dalam reaksi ini, molekul DPPH yang bersifat radikal akan bereaksi dengan atom hidrogen yang dilepaskan oleh senyawa uji. Reaksi ini menghasilkan senyawa 1,1-difenil-2-pikrilhidrazin, yang berwarna kuning. Semakin banyak atom hidrogen yang didonorkan oleh senyawa uji, semakin intens perubahan warna dari ungu menjadi kuning [2]. Hal ini menunjukkan bahwa semakin tinggi

jumlah atom hidrogen yang dilepaskan, semakin kuat aktivitas antioksidan senyawa tersebut.

Penurunan intensitas warna ungu menjadi kuning juga mencerminkan penurunan konsentrasi radikal DPPH dalam larutan. Pada pengujian DPPH harus dilakukan pada suasana ruangan gelap dan jauh dari paparan sinar matahari. Hal ini disebabkan karena DPPH sangat sensitif terhadap cahaya dan mudah terdegradasi jika terkena sinar, sehingga dapat mengurangi akurasi dalam pengukuran aktivitas reduksi senyawa. Setelah sampel dan DPPH dimasukkan ke dalam vial, dilakukan proses inkubasi atau pendiaman selama 30-40 menit, selebihnya reaksi sudah berjalan konstan. Inkubasi ini bertujuan untuk memberikan waktu yang cukup bagi senyawa antioksidan dalam sampel agar bisa bereaksi dengan radikal DPPH dan mereduksinya [2]. Larutan sampel yang diuji terjadi perubahan warna yang kurang signifikan dimana larutan DPPH yang awalnya berwarna ungu pekat perlahan berubah menjadi ungu muda. Perubahan warna yang dihasilkan dari penelitian ini juga menjadi indikator bahwa senyawa antioksidan dalam sampel lemah untuk mereduksi radikal DPPH, sehingga dari perubahan warna yang terjadi pada sampel dapat disimpulkan bahwa terdapat aktivitas antioksidan yang lemah dalam sampel.

Aktivitas antioksidan dari sampel ekstrak etanol daun jawer kotok diukur berdasarkan kemampuan sampel untuk menghambat serapan radikal bebas DPPH, yang dinyatakan melalui perhitungan persentase inhibisi. Persentase inhibisi ini menggambarkan sejauh mana sampel mampu menetralkan radikal bebas dalam larutan DPPH. Salah satu parameter penting dalam uji DPPH adalah nilai IC₅₀, yang merupakan indikator utama aktivitas antioksidan suatu senyawa. Nilai IC₅₀ menunjukkan konsentrasi larutan sampel atau substrat yang dibutuhkan untuk mengurangi aktivitas radikal DPPH sebesar 50%. Dengan kata lain, IC₅₀ adalah konsentrasi ekstrak dalam satuan ppm yang mampu menghambat 50% proses oksidasi [9].



Gambar 2. Hasil Uji Antioksidan Metode DPPH

Hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun jawer kotok ditunjukkan pada Gambar 2. Persentase inhibisi meningkat seiring bertambahnya konsentrasi, dari 21,799% pada 10 ppm hingga 40,607% pada 60 ppm, mengindikasikan adanya aktivitas penangkapan radikal bebas yang cukup baik. Kurva regresi juga menunjukkan hubungan linier antara konsentrasi dan aktivitas antioksidan, sebagaimana ditunjukkan oleh persamaan regresi $y = 0,3895x + 17,028$. Nilai IC₅₀ yang diperoleh adalah > 60 ppm, yang secara klasifikasi berada dalam kategori aktivitas antioksidan kuat (50–100 ppm) [9]. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak mengandung senyawa antioksidan yang aktif, meskipun kemampuannya belum mencapai kategori sangat kuat (<50 ppm). Faktor-faktor seperti kemungkinan kontaminasi atau ketidakkonsistenan teknis selama uji DPPH juga dapat memengaruhi hasil, sehingga diperlukan kontrol mutu yang ketat. Dengan demikian, ekstrak etanol daun jawer kotok terbukti memiliki potensi sebagai sumber antioksidan alami dengan efektivitas yang sebanding dengan konsentrasi yang digunakan.

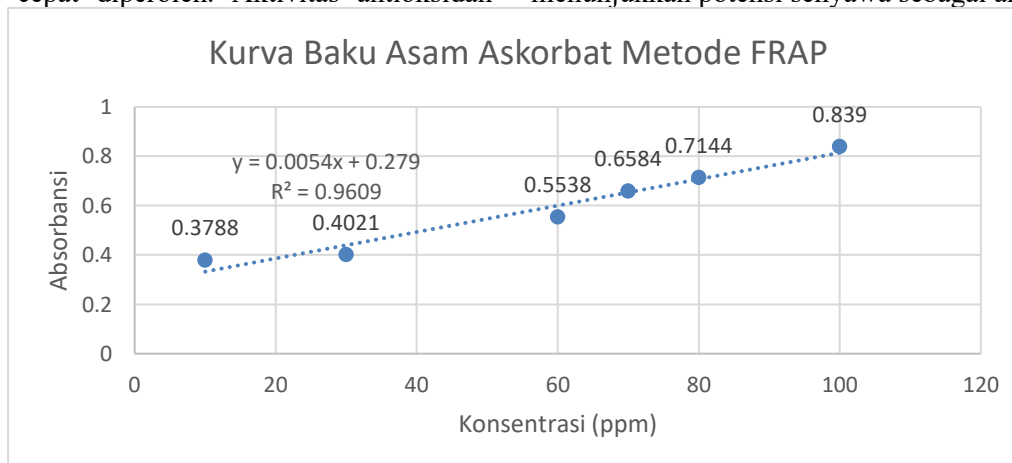
Hasil Uji FRAP

Metode FRAP digunakan untuk mengukur potensi antioksidan dengan cara menganalisis kemampuannya untuk mereduksi ion Fe³⁺ yang berwarna kuning menjadi ion Fe²⁺ yang berwarna hijau kebiruan. Perubahan warna dari kuning menjadi hijau kebiruan yang dihasilkan menunjukkan adanya proses reduksi yang terjadi pada ion Fe³⁺. Keberhasilan reduksi ini, terjadi dalam lingkungan asam, dipicu oleh elektron yang disumbangkan oleh senyawa antioksidan, sehingga kemampuan antioksidan suatu senyawa dapat di nilai mampu mereduksi senyawa dengan cara mendonorkan elektron ke radikal bebas, sehingga radikal bebas dapat berubah menjadi bentuk yang lebih stabil [23]. Salah satu kelebihan utama dari metode FRAP adalah waktu pengujian yang sangat singkat, memungkinkan hasil yang cepat diperoleh. Aktivitas antioksidan

dapat dipantau dengan mengukur serapan cahaya pada senyawa kompleks Fe²⁺ yang terbentuk menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang tertentu. Tahap-tahap dalam uji FRAP dimulai dengan pembuatan reagen yang mengandung ion Fe³⁺, diikuti oleh pembuatan larutan baku yang berfungsi sebagai pembanding, dalam penelitian ini menggunakan asam askorbat.

Asam askorbat dipilih karena merupakan antioksidan sekunder yang efektif dalam menangkal radikal bebas, menghambat terjadinya reaksi berantai yang bisa merusak sel. Asam askorbat juga memiliki gugus hidroksi yang berperan sebagai penangkap radikal bebas, serta gugus polihidroksi yang dapat memperkuat aktivitas antioksidannya, menjadikannya sebagai standar pembanding yang tepat dalam uji FRAP ini. Dengan cara ini, FRAP tidak hanya mengukur kemampuan mereduksi Fe³⁺, tetapi juga memberikan indikasi tentang kekuatan antioksidan dalam sampel yang diuji. Larutan baku ini digunakan untuk menetapkan referensi dalam perhitungan jumlah antioksidan dalam sampel, dalam penelitian ini adalah ekstrak daun jawer kotok. Penentuan panjang gelombang maksimum, dalam penelitian ini adalah 720 nm, dilakukan untuk memastikan bahwa pengukuran absorbansi dilakukan pada panjang gelombang di mana senyawa kompleks Fe²⁺ memiliki serapan terbesar, sehingga memperoleh hasil yang lebih sensitif dan akurat [11, 12].

Aktivitas antioksidan dari sampel ekstrak daun jawer kotok diukur berdasarkan mgAAE/g ekstrak yaitu milligram asam askorbat ekuivalen per gram yang berarti 1 g ekstrak setara dengan 4,86 gram asam askorbat [23]. Kemampuan suatu senyawa untuk menstabilkan radikal ditunjukkan melalui kemampuannya mendonorkan elektron atau atom hidrogen. Hal ini berhubungan dengan daya reduksi, yang berperan sebagai indikator potensi senyawa antioksidan dalam mereduksi ion Fe³⁺ menjadi Fe²⁺. Semakin tinggi absorbansi yang terukur, semakin tinggi pula kemampuan reduksi, sehingga menunjukkan potensi senyawa sebagai antioksidan.



Gambar 3. Kurva Baku Asam Askorbat

Hasil regresi dari konsentrasi (x) dengan nilai absorbansi (y) dari standar asam askorbat diperoleh persamaan yaitu $y = 0,0054x + 0,279$ dan didapat $R^2 = 0,9609$ dengan nilai absorbansi sampel dimasukkan ke persamaan. Pada hasil uji aktivitas antioksidan yang ditunjukkan pada Tabel 2. didapatkan nilai berupa absorbansi dan hasil uji aktivitas antioksidan (mgAAE/g ekstrak). Replikasi 1 memiliki nilai absorbansi sebesar 0,5775; replikasi 2 sebesar 0,5786 dan replikasi 3 sebesar 0,5969 dengan hasil aktivitas antioksidan yang ditunjukkan dengan hasil replikasi 1 sebesar 158,78 mg AAE/g; replikasi 2 sebesar 158,981 mg AAE/g dan replikasi 3 sebesar 162,043 mg AAE/g. Hasil ini menunjukkan hasil pada sampel ekstrak daun jawer kotok memiliki aktivitas antioksidan yang stabil. Rata-rata nilai aktivitas antioksidan sampel adalah 160,043 mg AAE/g ekstrak, yang dapat dianggap sebagai indikator kuat

dari kemampuan sampel untuk mereduksi ion Fe^{3+} menjadi Fe^{2+} yang artinya dalam setiap gram ekstrak setara dengan 160,043 mg AAE/g ekstrak [23]. Sebuah bahan dikategorikan sebagai antioksidan sangat kuat jika memiliki kapasitas lebih dari 500 mgAAE/g, kuat jika berada dalam rentang 100 – 500 mgAAE/g, medium pada 10–100 mgAAE/g, dan lemah jika kurang dari 10 mgAAE/g. Aktivitas antioksidan ekstrak daun jawer kotok mencapai 160,043 mgAAE/g, yang termasuk dalam kategori antioksidan kuat. Kemampuan antioksidan ini berkaitan dengan keberadaan gugus hidroksi bebas pada asam askorbat, yang berperan dalam menangkap radikal bebas dan mencegah reaksi berantai. Oleh karena itu, asam askorbat digunakan sebagai pembanding dalam penelitian ini karena fungsinya sebagai antioksidan sekunder yang efektif dalam menangkap radikal bebas [12].

Tabel 1. Hasil Uji Antioksidan DPPH

Sampel	Absorbansi (720 nm)	Aktivitas Antioksidan (mgAAE/g Ekstrak)
Replikasi 1	0,5775	158,78
Replikasi 2	0,5786	158,981
Replikasi 3	0,5969	162,370
Rata-rata		160,043

SIMPULAN

Ekstrak etanol daun *Coleus atropurpureus* L. Benth menunjukkan potensi kuat sebagai sumber antioksidan alami, berdasarkan hasil uji DPPH dan FRAP yang mengindikasikan aktivitas antioksidan yang tinggi. Hal ini mendukung pemanfaatan ekstrak daun *Coleus atropurpureus* L. Benth sebagai kandidat bahan alami yang efektif untuk aplikasi di bidang kesehatan atau industri pangan.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Nurkhasanah, Bachri, M. S., Yuliani, S. 2023. *Antioksidan dan Stres Oksidatif*. Yogyakarta: UAD Press.
- [2] Jami'ah, S. R., Ifaya, M., Pusmarani, J., Nurhikma, E. 2018. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Kulit Pisang Raja (*Musa Paradisiaca sapientum*) Dengan Metode DPPH (2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil). *Jurnal Mandala Pharmacon Indonesia*, 4 (1): 33–38.
- [3] Hidayati Salsabila, Febriyanti, R., Amananti, W. (2023). Penentuan Aktivitas Antioksidan Infudasi Akar Bajakah Tampala (*Spatholobus littoralis* Hassk) dan Kalalawit (*Uncaria gambir* Roxb) dengan Metode DPPH. *Jurnal Crystal : Publikasi Penelitian Kimia dan Terapannya*, 5 (1): 22–29. <https://doi.org/10.36526/jc.v5i1.2583>
- [4] Katrin, K., Bendra, A. 2015. Aktivitas Antioksidan Ekstrak, Fraksi dan Golongan Senyawa Kimia Daun *Premna oblongata* Miq. *Pharmaceutical Sciences and Research*, 2 (1): 21–31. <https://doi.org/10.7454/psr.v2i1.3332>
- [5] Fitri, N. 2013. Butylated Hydroxyanisole sebagai Bahan Aditif Antioksidan pada Makanan Dilihat dari Perspektif Kesehatan. *Jurnal Kefarmasian Indonesia*, 4 (1): 41–50.
- [6] Hamidah, M., Moektiwardoyo, M. 2019. Review Artikel: Senyawa Aktif Antiinflamasi Daun Jawer Kotok. *Farmaka*, 17(1), 89–96.

- [7] Giuliana, F. E., Ardana, M., Rusli, R. 2015. Pengaruh pH Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Miana (*Coleus atropurpureus* L. Benth). *Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences*, 1: 242–251. <https://doi.org/10.54239/2319-022-001-001>
- [8] Yahdiyani, N., Abun, A., Asmara, I. Y. 2025. Antioxidant Activity in Spinach , Beetroot and Wheat Pollard as Vegetable Sources Rich in Betaine for Poultry Feed, 12 (1): 129–137.
- [9] Syafrinal, Ramadhani, S. 2019. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Batang Dalu-Dalu Menggunakan Metode DPPH. *Jurnal Teknologi Pertanian*, 8 (1): 1–7.
- [10] Suhartati, T. 2017. *Dasar-dasar Spektrofotometri UV-Vis dan Spektrofotometri Massa untuk Penentuan Struktur Senyawa Organik*. Bandar Lampung: AURA CV. Anugrah Utama Raharja.
- [11] Leo, R., Daulay, A. S. 2022. Penentuan Kadar Vitamin C Pada Minuman Bervitamin yang Disimpan Pada Berbagai Waktu dengan Metode Spektrofotometri UV. *Journal of Health and Medical Science*, 1 (2): 105–115.
- [12] Fithriani, D., Amini, S., Melanie, S., Susilowati, R. 2015. Uji Fitokimia, Kandungan Total Fenol dan Aktivitas Antioksidan Mikroalga *Spirulina sp.*, *Chlorella sp.*, dan *Nannochloropsis sp.* *Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan*, 10 (2): 101. <https://doi.org/10.15578/jpbkp.v10i2.270>
- [13] Klau, M. H. C., Hesturini, R. J. 2021. Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Dandang Gendis (*Clinacanthus nutans* (Burm F) Lindau) Terhadap Daya Analgetik dan Gambaran Makroskopis Lambung Mencit. *Jurnal Farmasi & Sains Indonesia*, 4 (1): 6–12. <https://doi.org/10.52216/jfsi.v4i1.59>
- [14] Wijaya, A., Satriawan, B. 2023. Pengaruh Perbedaan Jenis Pelarut Terhadap Nilai Rendemen Ekstrak Daun Pepaya (*Carica papaya* .L). *Jurnal Ilmiah JOPHUS: Journal Of Pharmacy UMUS*, 5 (1): 10–17. <https://doi.org/10.46772/jophus.v5i1.728>
- [15] Lü, J. M., Lin, P. H., Yao, Q., Chen, C. 2010. Chemical and Molecular Mechanisms of Antioxidants: Experimental Approaches and Model Systems. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 14 (4): 840–860. <https://doi.org/10.1111/j.1582-4934.2009.00897.x>
- [16] Rowe, R. C., Sheskey, P. J., Owen, S. C. 2006. *Handbook of Pharmaceutical Excipients*. AusIMM Bulletin (5 ed.). London: Pharmaceutical Press.
- [17] Widarti, Armah, Z., Herman, Rahayu, S. 2021. Aktivitas Antioksidan dari Tiga Fraksi Pelarut Ekstrak Daun Dandang Gendis (EDDG). *Jurnal Media Analisis Kesehatan*, 12 (1): 56–65.
- [18] Nur Pratiwi, D., Utami, N., Pratimasari, D. 2021. Identifikasi Senyawa Flavonoid dalam Ekstrak, Fraksi Polar, Semi Polar serta Non Polar Bunga Pepaya Jantan (*Carica papaya* L.). *Jurnal Farmasi*, 2 (1): 25–31.
- [19] Susanti, Fadilah, N. N., Rizkuloh, L. R. 2021. Pengaruh Variasi Waktu Sonikasi Terhadap Kadar Flavonoid Total Ekstrak Metanol Umbi Gadung (*Dioscorea hispida* Dennst.). *Prosiding Seminar Nasional UAD*, 1–10.
- [20] Saerang, M. F., Edy, H. J., Siampa, J. P. 2023. Formulasi Sediaan Krim dengan Ekstrak Etanol Daun Gedi Hijau (*Abelmoschus manihot* L.) Terhadap *Propionibacterium acnes*. *Pharmacon*, 12 (3): 350–357. <https://doi.org/10.35799/pha.12.2023.49075>
- [21] Wijaya, H., Novitasari, Jubaidah, S. 2018. Perbandingan Metode Ekstraksi Terhadap

Rendemen Ekstrak Daun Rambui Laut (*Sonneratia caseolaris* L. Engl). *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 4 (1): 79–83.

Teknologi Pangan (ITEPA), 8 (1): 94. <https://doi.org/10.24843/itepa.2019.v08.i01.p11>

[22] Kristanti, Y., Widarta, I. W. R., Permana, I. D. G. M. 2019. Pengaruh Waktu Ekstraksi dan Konsentrasi Etanol Menggunakan Metode Microwave Assisted Extraction (MAE) Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rambut Jagung (*Zea mays* L.). *Jurnal Ilmu dan*

[23] Yuliawati, K. M. 2022. Pengujian Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode FRAP dan Penentuan Kadar Fenol Total pada Ekstrak Air Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*). *Journal of Pharmacopolium*, 5 (2).