



Uji Aktivitas Antioksidan Teh Herbal Daun Melinjo (*Gnetum Gnemon L.*) Dengan Menggunakan Spektrofotometri Visibel

¹Syarifah Aulia ¹, Rafita Yuniarti ², Gabena Indrayani Dalimunthe³, Ridwanto⁴

^{1,2,3,4} Universitas Muslim Nusantara Al Washliyah, Medan

Korespondensi Penulis : rapitayuniarti@gmail.com

Abstract : Antioxidants are compounds that can counteract / reduce the negative effects of free radicals that cause damage to the body. Natural antioxidants are used as an alternative in an effort to minimize the use of synthetic antioxidants which can cause carcinogens. Utilization of melinjo leaves as herbal tea is one effort to use natural antioxidants to minimize the use of synthetic antioxidants which can cause carcinogens. The purpose of this study was to determine the content of secondary metabolites contained in melinjo leaf tea, the characteristics of melinjo leaf tea and the antioxidant activity of melinjo leaf tea.

This research was conducted by making melinjo leaf herbal tea through a drying process in a drying cabinet at 40oC, phytochemical screening, examining the characteristics of the tea, and testing the antioxidant activity.

The results of the Phytochemical screening examination showed that melinjo leaf herbal tea contains alkaloids, flavonoids, saponins, tannins, steroids/triterpenoids. As well as having the characteristics of water content 5.6866%, water extract 36.9740%, total ash content 5.7658%, water soluble ash content to total ash 7.7066, acid insoluble ash content 0.54%. While the antioxidant activity test of melinjo leaf herbal tea showed very weak antioxidant activity with an IC50 value of 501.7622 ppm

Keywords: Herbal Tea, Melinjo Leaf (*Gnetum Gnemon L.*), Antioxidant, DPPH.

Abstrak: Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menangkal / meredakan dampak negative dari radikal bebas yang menyebabkan kerusakan dalam tubuh. Antioksidan alami yang digunakan sebagai salah satu alternatif dalam usaha untuk meminimalkan penggunaan antioksidan sintetis yang dapat menyebabkan karsinogen. Pemanfaatan daun melinjo sebagai teh herbal merupakan salah satu usaha penggunaan antioksidan alami untuk meminimalkan penggunaan antioksidan sintetis yang dapat menyebabkan karsinogen. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder yang terdapat dalam teh daun melinjo, Karakteristik teh daun melinjo serta aktivitas antioksidan teh daun melinjo.

Penelitian ini dilakukan dengan cara pembuatan teh herbal daun melinjo melalui proses pengeringan dalam lemari pengering pada suhu 40oC, skrining fitokimia, pemeriksaan karakteristik teh, dan uji aktivitas antioksidan.

Hasil pemeriksaan skrining Fitokimia menunjukkan bahwa teh herbal daun melinjo mengandung alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, steroid/triterpenoid. Serta memiliki karakteristik Kadar air 5,6866 %, Ekstrak dalam air 36,9740 %, Kadar abu total 5,7658 %, kadar abu larut dalam air terhadap abu total 7,7066, Kadar abu tidak larut asam 0,54 %. Sedangkan uji aktivitas antioksidan teh herbal daun melinjo menunjukkan aktivitas antioksidan yang sangat lemah dengan nilai IC50 501,7622 ppm

Kata Kunci: Teh Herbal, Daun Melinjo (*Gnetum Gnemon L.*), Antioksidan, DPPH

PENDAHULUAN

Daun melinjo atau (*Gnetum gnemon L.*) merupakan tanaman yang memiliki potensi pertanian tinggi di daerah Asia Tenggara dan Malaysia. Sejak dulu masyarakat sering menggunakan tanaman sekitar sebagai pengobatan. Tak hanya bijinya, daun melinjo juga dapat diolah menjadi makanan dan bahkan obat herba. Selain itu, manfaat daun melinjo bagi kesehatan sangatlah beragam. Hal ini berkat kandungan nutrisi dan antioksidan yang ada di dalamnya. Manfaat tanaman melinjo yaitu meningkatkan daya tahan tubuh, menurunkan kadar asam urat, mencegah penuaan dini, melancarkan urin, bahan alami untuk mengobati hipertensi, dan mencegah anemia. Daun melinjo mengandung vitamin C, karbohidrat, protein, zat besi, magnesium, potasium dan fosfor(Lestari, 2015).

Dari hasil penelitian E. Hanani et al. (2015), ekstrak daun melinjo di peroleh aktivitas antioksidan berkisaran 38,54 – 83,33 %. Menurut A.A. Hamid et al. (2010), melinjo merupakan tanaman yang mengandung antioksidan tinggi, sehingga dapat menghambat radikal bebas dan dapat berfungsi sebagai antiaging. Aktivitas antioksidan yang tinggi pada suatu bahan pangan dipengaruhi oleh senyawa yang ada didalamnya(Sastrohamidjojo, 2007). Menurut Emelda (2021),daun melinjo (*Gnetum gnemon L.*) mengandung tanin, saponin, dan flavonoid. Flavonoid merupakan golongan terbesar yang sangat efektif digunakan sebagai antioksidan.

Pencegahan radikal bebas dalam tubuh dapat dilakukan dengan mengonsumsi antioksidan. Antioksidan adalah senyawa yang dapat menangkal atau merendam dampak negative oksidan(Wanger, 2009). Pada umumnya antioksidan terdiri dari dua jenis yaitu antioksidan alami dan antioksidan sintetik. Namun saat ini penggunaan antioksidan sintetik sudah dibatasi, hal ini didasari bahwa antioksidan sintetik yaitu BHT (Butylated Hydroxy Toluena) ternyata dapat meracuni binatang dan bersifat karsinogen. Oleh karena itu saat ini industri makanan dan obat-obatan banyak yang beralih mengembangkan dan mencari sumber antioksidan alami dan daun melinjo merupakan salah satu tanaman yang mengandung antioksidan alami oleh sebab itu peneliti ingin membuat inovasi untuk membuat daun melinjo menjadi sediaan teh (A.S, 2007).

Teh merupakan salah satu bahan minuman alami yang sangat populer di masyarakat. Flavonoid merupakan golongan terbesar dari polifenol yang juga sangat efektif digunakan sebagai antioksidan. Flavonoid sebagai antioksidan dapat menghambat pertumbuhan sel kanker, mampu memperkuat dinding sel darah dan mengatur permeabilitasnya, mengurangi

terjadinya proses atherosklerosis di pembuluh darah dan mengurangi risiko kematian akibat penyakit jantung koroner (E. Hanani et al. 2015).

Antioksidan pada teh baik bagi kesehatan, terutama dalam melawan penyakit yang disebabkan oleh adanya radikal bebas. Senyawa fenolik mempunyai berbagai efek biologis seperti pereduksi senyawa radikal bebas, penangkap radikal bebas, peredam terbentuknya singlet oksigen serta pendonor electron. Senyawa fenolik berkontribusi secara langsung terhadap aktivitas antioksidan. Antioksidan dibutuhkan tubuh untuk melindungi tubuh dari serangan radikal bebas. Tubuh manusia tidak mempunyai cadangan antioksidan dalam jumlah berlebih, sehingga apabila terbentuk banyak radikal, maka tubuh membutuhkan antioksidan (Al-Snafi, 2016).

METODE PENELITIAN

Rancangan penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode deskriptif, yang terdiri dari skrining fitokimia, uji karakteristik, pengujian aktivitas antioksidan.

Pengambilan Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun ke 3 dan 5 tumbuhan daun Melinjo (*Gnetum gnemon* L.)

Determinasi Sampel

Determinasi tumbuhan dilakukan di Herbarium Medanase (MEDA) Departemen Biologi FMIPA Universitas Sumatera Utara Jalan Bioteknologi No. 1 Kampus USU Medan.

Pengolahan Teh Herbal Daun Melinjo

Daun melinjo yang masih segar ditimbang dan dibersihkan dari kotoran yang melekat dengan cara mencuci dengan air bersih yang mengalir lalu ditiriskan. Lalu pisahkan dari tulang daunnya. Selanjutnya dikeringkan kedalam lemari pengering dengan suhu 40-50 °C. Simplisia dianggap kering apabila diremas hancur. Selanjutnya dihaluskan menggunakan blender hingga menjadi serbuk kasar dan disimpan di dalam wadah untuk mencegah adanya pengaruh lembab dan zat pengotor lainnya.

Pembuatan Pereaksi

Pembuatan pereaksi yang digunakan dalam penelitian ini meliputi pereaksi: asam klorida (HCl) 2 N, asam sulfat (H₂SO₄) 2 N, besi (III) klorida (FeCl₃), larutan pereaksi Bouchardat, larutan pereaksi Dragendorff, larutan pereaksi Liebermann-Burchard, larutan pereaksi Mayer, larutan pereaksi Molisch, natrium hidroksida (NaOH) 2 N, timbal (II) asetat (Pb (CH₃COO)₂) 0,4 M.

Skrining fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan terhadap sampel uji. Pengujian ini meliputi flavonoid, saponin, tanin, alkaloid dan steroid/triterpenoid uji ini dilakukan untuk mengidentifikasi senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada daun melinjo (*Gnetum gnemon L.*).

Pemeriksaan flavonoid

Sebanyak 10 g serbuk ditimbang kemudian ditambahkan 100 ml air panas, dididihkan selama 5 menit dan disaring dalam keadaan panas. Kedalam 5 ml filtrat ditambahkan 0,1 g serbuk magnesium, 1 ml asam klorida pekat dan 2 ml amil alkohol, dikocok kuat dan dibiarkan memisah. Adanya flavonoid ditunjukkan dengan timbulnya warna merah, kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol (Ditjen POM, 1995).

Pemeriksaan Tanin

Sebanyak 0,5 g serbuk dengan 10 ml air suling lalu disaring. Filtratnya diencerkan dengan air sampai tidak berwarna. Larutan diambil sebanyak 2 ml dan ditambahkan 1-2 tetes pereaksi $FeCl_3$. Jika terjadi warna biru atau hijau kehitaman menunjukkan adanya tanin(RI, 2012).

Pemeriksaan Saponin

Sebanyak 0,5 g serbuk dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 10 ml air panas, didinginkan kocok selama 10 detik. Jika terbentuk busa setinggi 1-10 cm yang stabil tidak kurang dari 10 menit dan tidak hilang dengan penambahan 1 tetes asam klorida 2 N menunjukkan adanya saponin(Permadi, 2008).

Pemeriksaan Steroida/Triterpenoida

Sebanyak 1 g serbuk di maserasi dalam 20 ml n-heksan selama 2 jam kemudian disaring. Filtrat sebanyak 5 ml diuapkan dalam cawan penguap sampai kering. Kedalam residu ditambahkan 20 tetes asam asetat anhidrat dan 1 tetes asam sulfat pekat (pereaksi Liebermann-Burchard). Terbentuknya warna ungu atau merah yang berubah menjadi biru hijau menunjukkan adanya steroida/triterpenoida(B.N Meyer et al. 1982).

Pemeriksaan alkaloid

Serbuk masing-masing ditimbang sebanyak 0,5 g kemudian ditambahkan 1 mL asam klorida dan 9 mL aquades, dipanaskan air selama 2 menit, didinginkan lalu disaring. Filtrat dipakai untuk percobaan berikut:

- a. Diambil 3 tetes filtrat, lalu ditambahkan 2 tetes pereaksi Mayer.
- b. Diambil 3 tetes filtrat, lalu ditambahkan 2 tetes peraksi Bourchardat.
- c. Diambil 3 tetes filtrat, lalu ditambahkan 2 tetes pereaksi Dragendorf.

Alkaloida dianggap positif jika terjadi endapan atau paling sedikit dua atau tiga dari percobaan diatas(RI, 1989).

Karakteristik Teh

Keadaan Air Seduhan

Masukkan 1 kantong contoh (± 2 g) ke dalam gelas piala 300 ml, kemudian tambahkan air mendidih sebanyak 200 ml. biarkan selama 5 menit sambil gerakkan kantong naik turun dalam air. Keluarkan kantong dan biarkan larutan sampai suhu kamar. Lakukan pengujian organoleptic yang meliputi warna, bau dan rasa dengan indera penglihatan, penciuman dan pengecap (lidah) (SNI 2008).

Kadar air

Panaskan cawan beserta tutupnya dalam oven ($105\pm 2^\circ\text{C}$) selama ± 1 jam dan dinginkan dalam desikator. masukkan 5 g contoh ke dalam cawan, tutup dan timbang (W_1). Panaskan cawan yang berisi contoh tersebut dalam keadaan terbuka dengan meletakkan tutup cawan di samping cawan di dalam oven pada suhu ($105\pm 2^\circ\text{C}$) selama tiga jam. Tutup cawan ketika masih di dalam oven, pindahkan segera ke dalam desikator dan dinginkan selama 20 menit sampai dengan 30 menit kemudian timbang. Lakukan pemanasan kembali selama satu jam dan timbang sampai mencapai bobot yang tetap (W_2). Lakukan pekerjaan duplo dan hitung kadar air dalam contoh.

$$\text{Kadar air (\%)} = \frac{W_1 - W_2}{W_1 - W_0} \times 100\%$$

Keterangan:

W_0 = bobot cawan kosong dan tutupnya (g);

W_1 = bobot cawan, tutupnya dan contoh sebelum dikeringkan (g);

W_2 = bobot cawan, tutupnya dan contoh setelah dikeringkan (g) (SNI 2008).

Ekstrak dalam air

Panaskan cawan dalam oven pada suhu ($105\pm 2^\circ\text{C}$) selama lebih kurang satu jam dan dinginkan dalam desikator selama 20 menit sampai dengan 30 menit kemudian timbang dengan neraca analitik (W_0). Masukkan sampel sebanyak 2gram ke dalam gelas piala 300 ml (w_1) tambahkan 200 ml air mendidih dan diamkan selama 1 jam. saring kedalam labu ukur 500 ml dan bilas dengan air panas sampai warna larutannya menjadi jernih atau bening, kemudian dinginkan dan tepatkan sampai tanda garis dengan air suling, pipet 50 ml kedalam cawan yang telah diketahui bobot nya dan keringkan di ataspenangas air. Panaskan dalam oven selama dua jam dinginkan dalam desikator dan ditimbang. Panaskan Kembali dalam oven selama satu jam,

dinginkan dalam desikator dan timbang (W2), ulangi pekerjaan sampai mencapai bobot yang tetap. Lakukan pekerjaan duplo dan hitung kadar ekstrak dalam air.

$$\text{Ekstrak dalam air (\%)} = \frac{W1 - W2}{W0} \times p \times \frac{100}{100 - KA} \times 100\%$$

W0 = bobot cawan kosong dan tutupnya (g);

W1 = bobot cawan, tutupnya dan contoh sebelum dikeringkan (g);

W2 = bobot cawan, tutupnya dan contoh setelah dikeringkan (g).

KA = kadar air (%) (RI, 2012).

Kadar abu total

Panaskan cawan dalam tanur pada suhu ($525 \pm 25^\circ\text{C}$) selama lebih kurang satu jam dan dinginkan dalam desikator selama 30 menit kemudian timbang dengan neraca analitik (W0). Timbang dengan teliti sampel sebanyak 5 g contoh, masukkan ke dalam cawan dan timbang (W1). Panaskan cawan yang berisi contoh tersebut dalam oven pada ($105 \pm 2^\circ\text{C}$) sampai air hilang. Panaskan cawan yang berisi contoh yang telah dikeringkan di atas pemanas listrik hingga terbentuk arang (pemanasan secara bertahap dari panas kecil). Tempatkan cawan yang berisi contoh tersebut dalam tanur pada suhu ($525 \pm 25^\circ\text{C}$) sampai terbentuk abu berwarna putih. Tambahkan air ke dalam abu, keringkan dalam penangas air kemudian lanjutkan pada pemanas listrik kemudian abukan kembali pada suhu ($525 \pm 25^\circ\text{C}$) sampai mencapai bobot yang tetap. Pindahkan segera ke dalam desikator dan dinginkan selama 30 menit kemudian timbang (W2). Lakukan pekerjaan duplo dan hitung kadar abu total dalam contoh.

$$\text{Kadar abu total (\%)} = \frac{W2 - W0}{W1 - W0} \times 100\%$$

Keterangan:

W0 = bobot cawan kosong (g);

W1 = bobot cawan dan contoh sebelum diabukan (g);

W2 = bobot cawan dan contoh setelah diabukan (g).

Kadar abu larut dalam air terhadap abu total

Contoh yang digunakan adalah abu yang berasal dari penentuan kadar abu total (W). Tambahkan 20 mL air suling ke dalam cawan yang berisi abu total, panaskan sampai hampir mendidih dan saring dengan kertas saring bebas abu. Bilas cawan dan kertas saring beserta isinya dengan air panas hingga jumlah filtrat kira-kira 60 mL. Simpan filtrat untuk penetapan alkalinitas abu larut dalam air. Pindahkan kertas saring dan isinya ke cawan semula, uapkan dengan hati-hati di atas penangas air. Abukan dalam tanur listrik pada suhu ($525 \pm 25^\circ\text{C}$) sampai bebas karbon. Pindahkan segera ke dalam desikator dan dinginkan selama 30 menit kemudian

timbang (W3). Ulangi pekerjaan sampai mencapai bobot yang tetap. Lakukan pekerjaan duplo dan hitung kadar abu larut dalam air.

$$\text{Abu tak larut dalam air terhadap abu total (\%)} = \frac{W3}{W} \times \frac{100}{100-KA} \times 100\%$$

Keterangan:

W adalah bobot contoh pada penetapan abu total (g);

W3 adalah bobot abu tak larut dalam air (g);

KA adalah kadar air (%)

$$\text{Abu larut dalam air} = \frac{W4-W3}{W} \times \frac{100}{100-KA} \times 100\%$$

Keterangan:

W3 adalah bobot abu tak larut dalam air (g);

W4 adalah bobot abu total (g).

Kadar abu tidak larut dalam asam

Contoh uji merupakan abu tak larut dalam air (W3). Tambahkan 25 mL HCl 10% ke dalam cawan yang berisi contoh, tutup cawan untuk menghindari percikan dan didihkan larutan hati-hati selama sepuluh menit di atas penangas air. Dinginkan dan saring larutan menggunakan kertas saring tak berabu. Bilas menggunakan air panas hingga air pencuci bebas dari asam. Hal ini dapat diuji dengan larutan AgNO₃. Tempatkan kembali kertas saring dan isi ke dalam cawan, uapkan hati-hati di atas penangas air yang mendidih, kemudian panaskan dalam tanur pada suhu (525±25°C) hingga partikel bebas karbon. Segera pindahkan dan dinginkan cawan ke dalam desikator selama 30 menit dan timbang (W4). Ulangi pekerjaan sampai mencapai bobot yang tetap. Lakukan pekerjaan duplo dan hitung kadar abu tak larut dalam asam.

$$\text{Kadar abu tak larut dalam asam (\%)} = \frac{W4}{W3} \times \frac{100}{100-K} \times 100\%$$

Keterangan:

W4 = bobot contoh pada penetapan abu total (g);

W3 = bobot abu tak larut dalam air (g).

KA = kadar air, dinyatakan dalam %.

Pengujian aktivitas Antioksidan dengan spektrofotometri visible

Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan larutan 1.1 diphenyl – 2 – picrylhydrazyl (DPPH) dan diukur dengan spektrofotometer visible, dengan tahapan kerja penetapan Panjang gelombang larutan DPPH, penentuan *operating time* pengukuran absorbansi DPPH tanpa penambahan sampel, pengukuran absorbansi DPPH setelah penambahan sampel, pengukuran absorbansi DPPH setelah Penambahan vitamin C sebagai control positif dan perhitungan aktivitas antioksidan.

Prinsip metode pemerangkapan radikal bebas DPPH

Kemampuan sampel uji dalam meredam proses oksidasi DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) sebagai radikal bebas dalam larutan methanol p.a (sehingga terjadi peredaman DPPH) dengan IC_{50} (konsentrasi sampel uji yang mampu merendam radikal bebas sebesar 50%) digunakan sebagai parameter penentuan aktivitas antioksidan sampel uji (Molyneux, 2004).

Pembuatan larutan induk baku DPPH

Timbang 10 mg DPPH dimasukkan kedalam labu tertukur 50 ml kemudian dilarutkan dengan methanol dan volume nya dicukupkan dengan methanol sampai garis tanda (konsentrasi 200 $\mu\text{g/ml}$).

Pembuatan larutan blanko

Larutan DPPH konsentrasi 200 $\mu\text{g/ml}$ di pipet sebanyak 1 ml. kemudian dimasukkan kedalam labu tentukur 5 ml, dicukupkan volume nya dengan methanol sampai garis tanda (konsentrasi 40 $\mu\text{g/ml}$).

Penentuan Panjang gelombang serapan maksimum DPPH

Larutan DPPH konsentrasi 40 $\mu\text{g/ml}$ diukur serapan nya pada Panjang gelombang 400 – 800 nm.

Penentuan *operating time*

Larutan DPPH konsdentrasi 40 $\mu\text{g/ml}$ di ukur absorbansi nya hingga di peroleh waktu pengukuran yang stabil.

Pembuatan Larutan Induk Baku Teh Herbal Daun Melinjo

Ditimbang sebanyak 2 g serbuk teh daun melinjo dan di masukkan kedalam saringan, ditambahkan 200 mL air panas, didiamkan selama 5 menit, kemudian diperoleh larutan baku induk teh daun melinjo (konsentrasi 10.000 $\mu\text{g/ml}$).

Pengukuran absorbansi DPPH setelah penambahan seduhan teh Herbal daun melinjo

Larutan sampel dipipet sebanyak 0,1 ml; 0,2ml; 0,3ml; 0,4 ml dan 0,5ml, kemudian masing masing di masukkan kedalam labu tentukur 5 ml (untuk mendapatkan konsentrasi larutan uji 200 $\mu\text{g/ml}$, 400 $\mu\text{g/ml}$, 600 $\mu\text{g/ml}$, 800 $\mu\text{g/ml}$ dan 1000 $\mu\text{g/ml}$). lalu kedalam masing – masing labu tentukur ditambahkan 1 ml larutan blanko (konsentrasi 200 $\mu\text{g/ml}$) lalu volumenya dicukupkan dengan methanol sampai garis tanda, didiamkan ditempat gelap pengukuran dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan. Absorbansi diukur pada Panjang gelombang maksimum yang diperoleh dan didiamkan sesuai *operating time* yang di dapatkan.

Pengukuran Absorbansi Sampel dan Vitamin C setelah penambahan DPPH

Ditimbang sebanyak 50 mg vitamin C Kristal kemudian dilarutkan dengan metanol dalam labu tentukur 50 ml. volumenya dicukupkan dengan metanol sampai garis tanda (konsentrasi 1000 µg/ml). Kemudian dipipet larutan 0,25 ml; 0,5 ml; dan 1 ml dan 2 ml dimasukkan kedalam labu tentukur 5 ml lalu ditambahkan 0,5 ml larutan DPPH (konsentrasi 400 µg/ml) konsentrasi Vitamin C 50 µg/ml; 100 µg/ml, 200 µg/ml dan 400 µg/ml. kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum dan pengukuran dilakukan sebanyak tiga kali pengulangan setelah didiamkan sesuai dengan operating time yang didapatkan

Penentuan persen peredaman radikal bebas DPPH

Kemampuan antioksidan dan di ukur sebagai penurunan serapan larutan DPPH (peredaman warna ungu DPPH) sebelum dan sesudah penambahan larutan uji tersebut dihitung sebagai persen peredaman

$$\% \text{ peredaman} = \frac{A_{\text{kontrol}} - A_{\text{sampel}}}{A_{\text{kontrol}}} \times 100\%$$

Keterangan:

A_{kontrol} = absorbansi blanko

A_{sampel} = absorbansi sampel

Selanjutnya hasil perhitungan persen inhibisi yang diperoleh dilakukan perhitungan persamaan garis regresi linier dengan konsentrasi sampel (µg/ml) sebagai absis (sumbu x) dan nilai inhibisi sebagai ordinat nya (sumbu y). Maka di peroleh garis regresi yang selanjutnya dapat dihitung kemampuan bahan uji sebagai antioksidan dengan menghitung inhibitory concentration 50 % (IC_{50}) menggunakan rumus sebagai berikut $IC_{50} = ax + b$

Keterangan:

IC_{50} = kemampuan antioksidan menghambat 50% aktivitas radikal bebas

a = slope

b = intercept

x = konsentrasi

persamaan regresi linier didapatkan dengan cara membuat konsentrasi larutan uji dan % peredaman DPPH sebagai parameter aktivitas antioksidan dimana konsentrasi larutan uji (ppm) sebagai absis dan nilai % peredaman ordinat. Untuk mengetahui persamaan regresi maka digunakan rumus $Y = ax + b$

Penentuan nilai IC_{50}

Nilai IC_{50} merupakan bilangan yang menunjukkan konsentrasi sampel uji (µg/ml) yang memberikan peredaman DPPH sebanyak 50 % (mampu menghambat atau meredam proses oksidasi sebesar 50%). nilai 0 % berarti tidak mempunyai aktivitas antioksidan, sedangkan nilai

100 % berarti peredaman total dan pengujian perlu dilanjutkan dengan pengenceran larutan uji untuk melihat batas konsentrasi aktivitasnya. hasil perhitungan dimasukkan kedalam persamaan regresi seperti yang terlihat di atas. Kategori kekuatan aktivitas antioksidan dapat dilihat pada table

Table 1.
kategori kekuatan aktivitas antioksidan

No	Kategori	Konsentrasi µg/ml
1.	Sangat kuat	< 50
2.	Kuat	50 – 100
3.	Sedang	101 – 150
4.	Sangat lemah	151 – 200

Sumber: Mardawati dkk, 2008

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Identifikasi

Hasil identifikasi tumbuhan sampel yang dilakukan di *Herbarium Medanense*, Universitas Sumatera Utara menunjukkan bahwa sampel termasuk family Gnetaceae.

Hasil Skrining fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan untuk mendapatkan golongan senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam serbuk teh herbal daun melinjo, skrining fitokimia yang dilakukan pada daun melinjo meliputi pemeriksaan, saponin, tannin, Steroid/triterpenoid, alkaloid, flavonoid. Hasil skrining fitokimia terhadap teh herbal daun melinjo (*Gnetum gnemon L.*) dapat dilihat pada Tabel berikut:

Tabel 2.

hasil skrining fitokimia serbuk daun melinjo (*Gnetum gnemon L.*)

No	Metabolit Sekunder	Simplisia
1.	Alkaloid	(+)
2.	Flavonoid	(+)
3.	Saponin	(+)
4.	Tanin	(+)
5.	Steroid/triterpenoid	(+)

Keterangan:

(+) positif = mengandung golongan senyawa

(-) negatif = tidak mengandung golongan senyawa

Hasil yang diperoleh dari skrining fitokimia menunjukkan bahwa serbuk tel herbal daun melinjo mengandung golongan senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, dan steroid. Tujuan skrining adalah memberikan gambaran tentang golongan senyawa yang terkandung dalam tanaman yang diteliti. Pada penelitian ini, uji alkaloid memberikan hasil positif dengan terbentuk endapan pada 2 tabung yang menggunakan pereaksi mayer terbentuk endapan putih dan pereaksi dragendrof terbentuk endapan jingga, Alkaloid dianggap positif jika terjadi endapan atau paling sedikit dua atau tiga dari percobaan menurut. Uji flavonoid memberikan hasil positif dengan terbentuknya warna jingga pada lapisan amil alkohol Flavonoid memiliki potensi sebagai antioksidan karena memiliki gugus hidroksil yang terikat pada karbon cincin aromatik sehingga dapat menangkap radikal bebas yang dihasilkan dari reaksi peroksidasi lemak. Uji flavonoid dikatakan positif apabila menghasilkan larutan berwarna jingga, merah muda atau merah. Uji Saponin memberikan hasil positif dengan terbentuknya busa sekitar 2 cm dan busa tidak hilang dengan penambahan HCL 2N. Uji tanin memberikan hasil positif dengan terbentuknya endapan berwarna hijau kehitaman pada larutan ketika penambahan pereaksi $FeCl_3$. Uji steroid/triterpenoid memberikan hasil positif yang ditandai dengan terbentuknya larutan warna hijau kebiruan.

Hasil pembuatan Teh herbal

Daun melinjo yang digunakan sebagai sampel di ambil mulai dari daun ke-3 sampai daun ke-5 yang masih segar. Alasan pengambilan daun urutan ke-3 sampai daun ke-5 karena daun muda belum tentu berkembang penuh dalam arti masih aktif berfotosintesis, sedangkan daun dewasa merupakan daun yang telah berkembang penuh dan senyawa aktif di dalam nya lebih banyak dibandingkan daun muda dan antioksidan yang tertinggi pada urutan daun ke 3-5. Daun melinjo di timbang dan didapatkan sebanyak 5 kg setelah itu dicuci daun melinjo dengan air mengalir sampai bersih, dan ditiriskan, kemudian diangin-anginkan dan dimasukkan kedalam lemari pengering dengan suhu 40-50⁰C. Selanjut nya di bander haluskan untuk memperkecil ukuran, didapat serbuk kering sebanyak 2 kg, ditimbang serbuk 2 gram dan kemudian the herbal dikemas kedalam teh celup.

Hasil Karakterisasi Simplisia

Penetapan kadar simplisia meliputi kadar air, ekstrak dalam air, kadar abu total, kadar abu larut air terhadap abu total, kadar abu yang tidak larut asam.

Hasil uji karakteristik dari simplisia *Gnetum gnemon* L. (Daun melinjo) dapat dilihat pada Tabel.

Tabel 3.

hasil karakteristik serbuk teh daun melinjo (*Gnetum gnemon L.*)

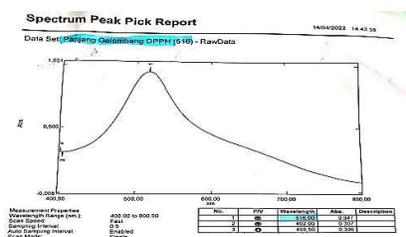
No	Parameter	Keterangan rata rata (%)
1.	Kadar air	5,6866 %
2.	Ekstrak dalam air	36,9740 %
3.	Kadar abu total	5,7658 %
4.	kadar abu larut dalam air terhadap abu total	7,7066 %
5.	Kadar abu tidak larut asam	0,54 %

Berdasarkan tabel 4.2, karakteristik teh daun melinjo memenuhi persyaratan SNI tahun 2008 yaitu, kadar air 5,6866% ($\leq 10\%$), ekstrak dalam air 36,9740 ($\geq 32\%$), kadar abu total 5,7658% ($\leq 4 - 8\%$), kadar abu tak larut asam 0,54% ($\leq 1,0\%$), kadar abu larut dalam air terhadap abu total 7,7066 (45%).

Hasil Analisis Uji Aktivitas Antioksidan

Aktivitas antioksidan teh herbal daun melinjo diperoleh dari hasil pengukuran absorbansi DPPH dengan adanya penambahan larutan uji dengan menggunakan spektrofotometri visibel.

Hasil Pengukuran Panjang Gelombang maksimum



Gambar 1.

Data hasil pengukuran panjang gelombang maksimum DPPH

Hasil Panjang serapan maksimum DPPH dengan konsentrasi 40 $\mu\text{g/ml}$ (ppm) dalam pelarut methanol menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada gelombang 400-800 nm diperoleh dengan Panjang gelombang maksimum 0,947 pada 516 nm.

Hasil Penentuan *Operating Time*

Operating time bertujuan untuk mengetahui waktu yang dibutuhkan oleh sampel untuk bereaksi dengan radikal DPPH dengan maksimal diukur pada Panjang gelombang maksimum 516 nm. Waktu kestabilan ditunjukkan dengan nilai absorbansi yang konstan pada rentang waktu tertentu. Hasil percobaan penentuan operating time menunjukkan serapan stabil pada menit 5-10.

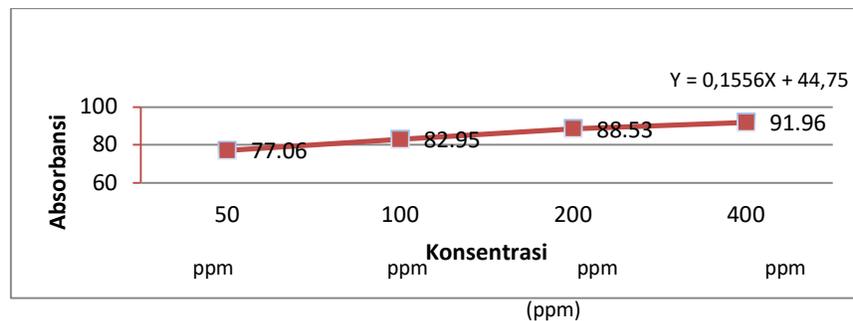
Tabel 4.
Data Operating Time

Waktu (menit)	Absorbansi	Waktu (menit)	Absorbansi
1	0,6595	11	0,6609
2	0,6595	12	0,6610
3	0,6602	13	0,6610
4	0,6602	14	0,6610
5	0,6606	15	0,6615
6	0,6606	16	0,6615
7	0,6606	17	0,6615
8	0,6606	18	0,6615
9	0,6606	19	0,6619
10	0,6606	20	0,6619

Hasil Analisis Antioksidan

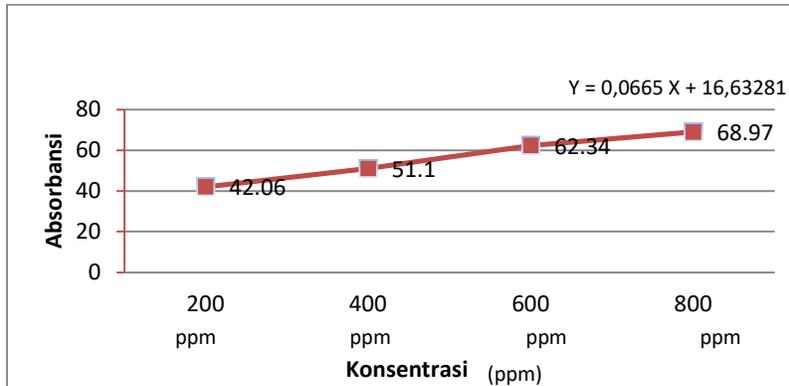
Aktivitas antioksidan larutan vitamin C dan teh herbal dauh melinjo diperoleh dari hasil pengukuran absorbansi DPPH pada menit ke-5 sampai menit ke-10 dengan penambahan larutan uji dengan konsentrasi 200 ppm, 400 ppm, 600 ppm, 800 ppm dan 1000 ppm untuk larutan Vitamin C sebagai kontrol positif dan penambahan larutan uji dengan konsentrasi 50 ppm, 100 ppm, 200 ppm, 400 ppm. Kemudian di ukur potensi antioksidan nya dengan metode DPPH menggunakan spektrofotometri visibel pada Panjang gelombang 516 nm. Interaksi antioksidan dengan DPPH baik secara transfer electron atau radikal hydrogen pada DPPH akan menetralkan radikal bebas DPPH. Semua electron pada radikal bebas DPPH menjadi berpasangan akan ditandai warna larutan yang berubah dari ungu tua menjadi kuning terang seiring dengan jumlah konsentrasi larutan uji yang ditambahkan.

Kurva Hasil % Peredaman



Gambar 2.

% peredaman konsentrasi vitamin C (sumbu x) dengan nilai absorbansi (sumbu y)



Gambar 3.

% peredaman teh daun melinjo
(sumbu x) dengan nilai absorbansi (sumbu y)

Hasil Analisis Peredaman Radikal Bebas DPPH Sampel Uji

Kemampuan antioksidan seduhan teh herbal daun melinjo pada menit ke-5 sebagai penurunan serapan larutan DPPH (peredaman radikal bebas) akibat adanya penambahan larutan uji dihitung sebagai persen peredaman. Hasil analisis % peredaman yang telah dilakukan, diperoleh nilai persen peredaman setiap kenaikan konsentrasi teh herbal daun melinjo dan Larutan Vitamin C. Yang dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 5.

Hasil Analisis Peredaman Radikal Bebas Oleh Teh Daun Melinjo Dan Larutan Vitamin C

Larutan Uji	Konsentrasi Larutan uji (ppm)	% Peredaman
Teh daun melinjo	0 (Blanko)	-
	200	42,06
	400	51,10
	600	62,34
	800	68,97
	1000	74,79
Larutan Vitamin C	0 (Blanko)	-
	50	77,06
	100	82,95
	200	88,53
	400	91,96

Dari tabel, disimpulkan bahwa semakin besar konsentrasi larutan uji maka semakin meningkat aktivitas peredaman DPPH karena semakin banyak DPPH yang berpasangan

dengan atom hydrogen dari the herbal daun melinjo dan Larutan Vitamin C sehingga serapan DPPH menurun.

Analisis Nilai IC₅₀ (*Inhibitory Concentration*) Sampel Uji

Nilai IC₅₀ diperoleh berdasarkan regresi linear yang didapatkan dengan cara membuat konsentrasi larutan uji dan % peredaman DPPH sebagai parameter aktivitas antioksidan, dimana konsentrasi larutan uji (ppm) sebagai absis dan nilai % peredaman sebagai ordinat. Untuk mengetahui persamaan regresi maka digunakan rumus $Y = ax + b$. Hasil persamaan regresi linear yang diperoleh dari teh daun melinjo dan Larutan Vitamin C dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6.

Hasil persamaan regrensi linear yang diperoleh dari teh daun melinjo dan Larutan Vitamin C

Larutan uji	Persamaan regresi
Teh herbal daun melinjo	$Y = 0,0665 X + 16,63281$
Larutan Vitamin C	$Y = 0,1556X + 44,75$

Tabel 7.

Hasil analisis IC₅₀ yang diperoleh berdasarkan perhitungan persamaan regresi dapat dilihat pada Tabel berikut ini:

Sampel	IC ₅₀ (ppm)
Teh herbal daun melinjo	501,7622
Larutan Vitamin C	33,19

Pada Tabel diatas dapat diketahui bahwa Larutan Vitamin C memiliki aktivitas Antioksidan yang sangat kuat IC₅₀ = 33,19 dan teh herbal daun melinjo memiliki Aktivitas Antioksidan yang sangat lemah IC₅₀ = 501,7622, secara spesifik suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat jika nilai IC₅₀ kurang dari 50 µg/ml, dan dikatakan sebagai antioksidan kategori sangat lemah jika memiliki nilai IC₅₀ diatas 151-200 µg/ml.

Aktivitas antioksidan nilai IC₅₀ pada pada Larutan Vitamin C sebagai Kontrol positif lebih besar yaitu 33,19 sedangkan pada teh herbal daun melinjo 501,7622 Disini terdapat perbedaan nilai IC₅₀ pada Vitamin C dan teh daun melinjo. Semakin kecil nilai IC₅₀ suatu senyawa maka semakin besar aktivitas antioksidanya. Vitamin C memiliki IC₅₀ lebih kecil, maka aktivitas antioksidan Vitamin C lebih tinggi, sedangkan Nilai IC₅₀ teh daun melinjo lebih besar, sehingga aktivitas antioksidannya lebih rendah.

KESIMPULAN

Teh herbal daun melinjo mengandung metabolit sekunder golongan: Flavanoid, steroid/triterpenoid, saponin, tanin dan alkaloid. Teh herbal daun melinjo memiliki karakteristik mutu yang baik sesuai SNI 2008 memenuhi persyaratan mutu fisik teh berdasarkan SNI Tahun 2008 dengan nilai yang diperoleh dari kadar air 5,6866 %, ekstrak dalam air 36,9740 %, kadar abu total 5,7658%, kadar abu tak larut asam 0,54%, kecuali kadar abu larut dalam air terhadap abu total 7,7066%,. Teh daun melinjo memiliki aktivitas antioksidan sangat lemah dengan nilai IC₅₀ 501,7622 ppm dan pada Vitamin C memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat dengan IC₅₀ 33,19 ppm.

UCAPAN TERIMA KASIH

Pada kesempatan ini, peneliti ingin mengucapkan Terima kasih kepada seluruh dosen serta staff Fakultas Farmasi Universitas Muslim Nusantara Al-Washliyah dan seluruh teman – teman Fakultas Farmasi stambuk 2018. Terima kasih kepada Ayahanda Said abdullatif dan Ibunda Rosnidar serta keluarga tercinta. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada Ibu apt. Rafita Yuniarti, S.Si., M. kes. selaku pembimbing.

DAFTAR PUSTAKA

- A.A. Hamid, O. .. Aiyelaagbe et al. 2010. “Antioxidant : its Medidal and Pharmacological Applications.” *African Journal of pure and applied chemistry* 4(8):142–51.
- A.S, Kanwar. 2007. “Brine Shrimp (*Artemia salina*) a Marine Animal For Simple and Rapid Biological Assay.” *Journal Chinese Clinical Medicine* 2 (4):35–42.
- Al-Snafi, A. E. 2016. “Clinically tested medicinal plant: A review (Part 1).” *SMU Medical Journal* 3 (1):99–128.
- B.N Meyer, N. R. Ferrigni et al. 1982. “Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents.” *Journal Of Medicinal Plant Research* 45 (3):31–34.
- E. Hanani, Abdul Mun'im et al. 2015. “Identifikasi senyawa antioksidan dalam spons *Callispongia* sp. dari kepulauan seribu.” *Majalah ilmu kefarmasian* 1(2):11–13.
- Emelda, E. 2021. *Farmakognosi: Untuk Mahasiswa Kompetensi Keahlian Farmasi*. Yogyakarta: Pustaka Baru Press.
- Lestari, Muharifzah S. 2015. “Karakterisasi fisikokimia kerupuk melinjo sebagai upaya diversifikasi produk olahan melinjo.”
- Molyneux, P. 2004. “the use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) of estimating antioxidant activity.” *J. Sci. technol Songklanakarin* 26(2):211–19.
- Permadi, A. 2008. *Membuat Kebun Tanaman Obat*. Jakarta: Pustaka Bunda.
- RI, Depkes. 1989. *Materia Medika Indonesia Jilid V*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
- RI, Permenkes. 2012. *Formularium Obat Herbal Asli Indonesia*. Jakarta: Peraturan Menteri

Kesehatan RI.

Sastrohamidjojo, Hardjono. 2007. *Spektroskopi*. Yogyakarta: Liberty.

Wanger, A. 2009. "Antibiotic Susceptibility Testing in Goldman, and Green L, Practical Handbook of Microbiology." *New York: CRC. Press* (nsd edition):150–55.