

ISOLASI SENYAWA ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL BUAH BISBUL (*Diospyros discolor* Willd.)

Harry Noviardi*, Antonius Padua Ratu, Amanda Feby Safitri

Program Studi S1 Farmasi, Sekolah Tinggi Teknologi Industri dan Farmasi, Bogor

*Korespondensi: harry.noviardi@gmail.com

ABSTRAK

Radikal bebas merupakan salah satu bentuk senyawa oksigen reaktif, yang dapat mengganggu produksi DNA, lapisan lipid pada dinding sel, mempengaruhi pembuluh darah, dan produksi prostaglandin. Oleh karena itu dibutuhkan zat antioksidan karena kemampuannya dalam menghambat radikal bebas dengan cara menyumbangkan satu elektron pada radikal bebas. Senyawa antioksidan sintesis sering memiliki efek samping tidak baik, sehingga banyak dicari alternatif antioksidan dari bahan alami salah satunya adalah buah bisbul (*Diospyros discolor* Willd.). Buah bisbul memiliki aktivitas antioksidan yang kuat. Tujuan dari penelitian ini adalah mengisolasi senyawa aktif ekstrak buah bisbul yang memiliki aktivitas antioksidan. Metode isolasi yang digunakan adalah metode kromatografi lapis tipis dan kromatografi kolom, dilanjutkan dengan menggunakan metode spektroskopi FTIR dan LC-MS, sedangkan aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH. Hasil yang didapat aktivitas antioksidan memiliki IC_{50} 53,51 ppm. Spektrum dari spektroskopi FTIR didapatkan bahwa senyawa memiliki gugus hidroksil dimana dapat diasumsikan sebagai fenol atau alkohol. Sedangkan hasil spektrum LC-MS senyawa memiliki massa molekul sebesar ($m+H^+$) 631.95 m/z. Simpulan yang didapat dari hasil adalah ekstrak etanol buah bisbul memiliki aktivitas antioksidan yang kuat dan senyawa yang bersifat antioksidan kemungkinan Goshonoside F4.

Kata kunci: antioksidan, *Diospyros discolor* Willd., DPPH, fenol, isolasi

ABSTRACT

Free radicals are the one form of reactive oxygen compounds, which could disrupt the production of DNA, lipid layer on the cell wall, affecting blood vessels, and the production of prostaglandins. Therefore, it takes antioxidants because its ability to inhibit free radicals by means of donating one electron on free radicals. Synthetic antioxidant compounds often have side effects is not good, so much sought after alternative antioxidants from natural ingredients, one of which is bisbul fruit (*Diospyros discolor* Willd.). Based on research, bisbul fruit has a strong antioxidant activity. The purpose of this study was to isolate the active compound bisbul fruit extracts which had antioxidant activity. The isolation method used thin layer chromatography method and chromatography columns, continued using FTIR spectroscopy method and LC- MS, while the antioxidant activity using the DPPH method. The results obtained had antioxidant activity IC_{50} 53.51 ppm. The spectrum of FTIR spectroscopy was obtained that the compounds had a hydroxyl group which could be assumed as a phenol or alcohol. While the results of the LC-MS spectrum of compounds having a molecular mass of ($m+H^+$) 631.95 m/z. The results showed extract the ethanol bisbul fruit had a strong antioxidant activity and possibility compound antioxidants was Goshonoside F4.

Keywords: antioxidant, *Diospyros discolor* Willd., DPPH, phenol, isolation

PENDAHULUAN

Dunia kesehatan banyak membahas tentang radikal bebas dan antioksidan. Hal tersebut dikarenakan sebagian besar penyakit terjadi disebabkan adanya reaksi oksidasi yang berlebihan di dalam tubuh [1]. Radikal bebas merupakan salah satu bentuk senyawa oksigen reaktif, yang secara umum diketahui sebagai senyawa yang memiliki elektron yang tidak berpasangan. Senyawa ini terbentuk di dalam tubuh, dipicu oleh bermacam-macam faktor, misalnya ketika komponen makanan diubah menjadi bentuk energi melalui proses metabolisme. Radikal bebas dapat mengganggu produksi DNA, lapisan lipid pada dinding sel, mempengaruhi pembuluh darah, dan produksi prostaglandin [2].

Salah satu zat yang dapat menangkal radikal bebas adalah zat antioksidan. Antioksidan merupakan suatu senyawa yang dapat menghambat radikal bebas yang dihasilkan oleh berbagai proses normal tubuh, radiasi matahari, asap rokok, asap kendaraan bermotor dan faktor-faktor lain [3]. Reaktivitas radikal bebas dapat dinetralkan oleh antioksidan, karena kemampuannya menyumbangkan elektron. Antioksidan dapat berasal dari bahan alam maupun sintetis. Senyawa antioksidan sintetis sering memiliki efek samping tidak baik, sehingga banyak dicari alternatif antioksidan dari bahan alami [4].

Salah satu tanaman yang mempunyai senyawa antioksidan adalah buah bisbul. Buah bisbul (*Diospyros discolor* Willd.) merupakan buah yang jarang ditemukan di Indonesia, di kota Bogor terdapat buah bisbul yang sering dijadikan buah konsumsi oleh masyarakat, di dalam buah bisbul terdapat kandungan senyawa flavonoid, tanin, saponin, dan fenol [5]. Penelitian yang dilakukan oleh Fermadianto mendapatkan hasil bahwa ekstrak etanol buah bisbul memiliki kadar antioksidan yang tinggi yaitu memiliki nilai IC_{50} sebesar 69,13ppm [6].

Berdasarkan pernyataan diatas perlu dilakukan isolasi senyawa antioksidan dalam ekstrak etanol buah bisbul. Pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH (*1,1-diphenyl-1-picrylhydrazyl*) yang dapat direduksi atau distabilisasi oleh antioksidan. Penurunan absorbansi DPPH dalam larutan campuran dengan antioksidan menjadi dasar pengujian antioksidan pada metode DPPH ini, yang dinyatakan dengan IC_{50} [7]. Serta dilakukan penetapan kadar total fenolik dari ekstrak etanol buah bisbul. Sedangkan untuk isolasi senyawa antioksidan sendiri menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT), Kromatografi

Kolom (KK), dan sampel akan di analisis dengan menggunakan Spektrofotometer FTIR dan Spektrofotometer LC- MS.

METODE PENELITIAN

Bahan: buah bisbul, n-heksan, etil asetat, etanol 96%, kloroform, metanol, toluen, diklorometana, Na_2CO_3 , akuades, DPPH, HCl pekat, HCl 2N, asam sulfat 2 N, pereaksi Mayer, pereaksi Wagner, pereaksi Dragendroff, $FeCl_3$, kloroform, asam sulfat pekat, asam asetat anhidrat, silica gel, plat KLT, asam galat, serbuk Mg, natrium karbonat, aluminium foil, serbuk KBr, dan amil alkohol.

Alat: rotary evaporator (IKA RV 10 basic), Spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu Uvmini-1240), Spektrofotometer FTIR (Bruker tensor 37), Spektrofotometer LC-MS (Water Aliens 2695), kolom, chamber, botol coklat, alat gelas, dan deksikator.

Metode

Pembuatan Simplisia

Buah bisbul setengah matang dibersihkan dan daging buah dipisahkan dari biji dan kulit buahnya. Daging buah dipotong kecil-kecil. Kemudian, dikeringkan dengan cara diangin-anginkan sampai simplisia itu kering. Setelah itu diserbukkan menggunakan blender Miyako BL-152 GF lalu diayak menggunakan ayakan ukuran 40 mesh [8] [9].

Kadar air simplisia

Cawan dikeringkan pada temperatur $105^{\circ}C$ selama 30 menit. Setelah itu didinginkan dalam deksikator selama 30 menit kemudian ditimbang. Sampel ditimbang di dalam cawan porselin. Kemudian dikeringkan pada temperatur $105^{\circ}C$ sampai massa konstan. Setelah itu didinginkan dalam deksikator selama 30 menit, cawan beserta sampel ditimbang.

Ekstraksi buah bisbul

Sampel dimaserasi dengan 3 pelarut yaitu n-heksan, etil asetat dan etanol, selama 3x 24 jam, setiap 24 jam pelarut diganti. Hasil dari maserasi disaring agar tidak ada pengotor yang dapat mengkontaminasi sampel. Setelah dimaserasi, ekstrak dikentalkan dengan menggunakan *vaccum rotary evaporator* dengan suhu $50^{\circ}C$ dan 40 rpm, agar didapat ekstrak kental dari buah bisbul. Setelah di dapat ekstrak buah bisbul dilakukan uji kualitatif potensi anti oksidan.

Penetapan Kandungan Total Fenol [10]

Sebanyak 10 mg asam galat dilarutkan di dalam 10 mL air maka didapatkan konsentrasi 1000 ppm. Dibuat larutan baku asam galat dengan konsentrasi 5, 10, 15, 20, 25 ppm diambil dari larutan induk, masing-masing 1 mL ditambahkan 500 μ L pereaksi Folin Ciocalteu, 4 mL Natrium karbonat (2% b/v). Kemudian ditutup dengan alumunium, disimpan dalam ruangan gelap selama 30 menit.

Sebanyak 10 mg ekstrak buah bisbul dilarutkan ke dalam labu takar 25 mL, kemudian 1 mL larutan ekstrak ditambahkan 500 μ L pereaksi pereaksi *Folin Ciocalteu*, 4 mL Natrium karbonat (2% b/v). Kemudian ditutup dengan alumunium, disimpan dalam ruangan gelap selama 30 menit dan diukur pada λ maks 641nm.

Penetapan Antioksidan Ekstrak

Sebanyak DPPH2 mg ditimbang, dilarutkan dalam etanol 96% dan etil asetat 50 mL sehingga didapatkan larutan 40 ppm. Sebanyak 10 mg Vitamin C dilarutkan kedalam 100 mL etanol 96%. Setelah itu dibuat deret standar dengan konsentersasi 1, 5, 15, 20, 25, dan 30 ppm. Ekstrak kental ditimbang sebanyak 1 gram. Ekstrak tersebut dimasukkan ke dalam labu ukur 250 mL kemudian ditambahkan pelarut sesuai yang digunakan sampai batas tera hingga di peroleh konsentersasi 4.000 ppm. Kemudian dibuat konsentersasi 10, 30, 100, 250, 500, dan 1000 ppm. Sampel yang telah dibuat kosentersasinya (10, 30, 100, 250, 500, 1000 ppm), dimasukkan ke dalam tabung reaksi sebanyak 1 mL. Kemudian ditambahkan 4 mL larutan DPPH 40 ppm dan didiamkan selama 30 menit. Diukur absorbansinya pada panjang gelombang 517 nm.

Isolasi Senyawa Antioksidan dari Ekstrak Buah Bisbul

Penentuan dan Optimasi Eluen

Variasi pelarut yang digunakan adalah Kloroform: Metanol dengan perbandingan 10:1. Ditotolkan ekstrak IC50 terbaik pada plat KLT menggunakan pipa kapiler dengan diameter penotolan antara 2-5 mm, kemudian masukkan ke dalam chamber yang berisi eluen yang telah dijenuhkan. Plat KLT dikeluarkan setelah eluen mencapai batas akhir. Diamati pola hasil pemisahan kemudian ditentukan eluen yang akan digunakan untuk kromatografi kolom. Pada kromatografi kolom dilakukan dengan memasukkan kapas ke dalam kolom dan diletakkan di dasar kolom. Fase diam yang

digunakan adalah silika gel dengan dibuat menjadi bubuk dengan disuspensikan dalam eluen yaitu kloroform:metanol 10:1, kemudian dimasukkan ke dalam kolom dan dikondisikan agar tidak terdapat gelembung atau rongga udara.

Ekstrak dimasukkan ke dalam kolom kemudian dibasahi dengan fase geraknya, eluat yang keluar ditampung dengan menggunakan vial. Eluat yang sudah ditampung akan dipantau dengan KLT menggunakan eluen perbandingan yang telah ditentukan. Eluat yang memiliki bercak yang sama digabung menjadi satu fraksi sehingga mendapat beberapa fraksi. Pada fraksi yang memiliki bercak yang sama hasil kromatografi kolom pertama dilakukan KLT preparatif untuk memisahkan senyawa yang lain dengan senyawa target. Elusi didalam chamber dengan eluen kloroform : etilasetat : metanol (30:15:2). Dikeruk noda atau pita yang aktif dari silika gel. Ditampung didalam vial.

Identifikasi Senyawa Murni

Penentuan struktur Molekul dilakukan dengan menggunakan 2 instrumen antara lain, FTIR dan LC-MS. Identifikasi senyawa dengan menggunakan FTIR dilakukan dengan cara, isolat murni sebanyak 10 mg, dicampur dengan serbuk KBr sebanyak 50 mg dan digerus sampai homogen. Pada alat terlebih dahulu dilakukan baseline dengan blanko yang digunakan adalah udara. Sampel diletakkan ke dalam sel KBr dan dimasukkan ke dalam alat dengan lubang mengarah ke sumber radiasi kemudian dilakukan analisis. Sedangkan penentuan senyawa dengan menggunakan LC-MS dilakukan dengan cara, sebanyak 50 mg senyawa A dilarutkan dengan 10 mL methanol lalu diambil 10 μ L sampel dan disuntikkan pada LC-MS melalui kolom dan akan didapat data berupa spektrum.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik Simplisia

Buah bisbul setengah matang yang digunakan diperoleh dari daerah Jl. Pemuda Kebon Angrek Tanah Sareal Kota Bogor. Untuk mengetahui taksonomi tanaman yang akan digunakan maka dilakukan determinasi tanaman di Pusat Penelitian Biologi-LIPI. Berdasarkan pada hasil determinasi tanaman menunjukkan bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini memiliki taksonomi buah bisbul jenis *Diospyros discolor* Willd, Suku Ebenaceae.

Serbuk hasil simplisia yang dihasilkan dari 2 kg daging buah bisbul sebanyak 150 gram.

Dari 150 gram serbuk simplisia buah bisbul diambil 50 gram untuk masing-masing dimaserasi dengan etanol 96%, etil asetat, dan *n*-hexan sebanyak 500 mL selama 3x24 jam. Hasil maserasi yang berupa filtrat sebanyak 230 mL akan dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu sekitar 50°C dan 40 rpm, setelah dipekatkan dengan *rotary evaporator* ekstrak akan dikentalkan dengan menggunakan *waterbath* dengan suhu 55°C, untuk mendapatkan ekstrak kental. Untuk fraksi etil asetat dan *n*-hexan hasil maserat tidak mengalami pemekatan hal ini dikarenakan zat yang tertarik oleh etil asetat dan *n*-hexan tidak dapat ditarik oleh pelarut tersebut sehingga hanya didapat ekstrak pada pelarut etanol 96%. Ekstrak kental etanol 96% yang didapat mempunyai warna coklat tua, dengan bau khas

bisbul dan mempunyai bobot sebanyak 11,24 gram dan didapatkan hasil rendemen ekstrak sebesar 22,48%. Penetapan kadar air dilakukan dengan metode gravimetri dengan menggunakan oven pada suhu 105°C. Didapat rerata dari kadar air adalah 8,8%.

Penapisan Fitokimia

Penapisan fitokimia bertujuan untuk mengetahui suatu komponen aktif yang terdapat pada suatu sampel. Pada penelitian ini penapisan fitokimia dilakukan secara kualitatif. Uji yang ditentukan pada penapisan ini meliputi alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, steroid atau triterpenoid, dan dilihat berdasarkan perwarnaan yang terbentuk. Hasil dari kandungan fitokimia ekstrak buah bisbul dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Kandungan Fitokimia Ekstrak Buah Bisbul

Pengujian	Hasil
Alkaloid	
Pereaksi Mayer	-
Preaksi Wagner	-
Pereaksi Dragendorf	+
Saponin	+
Tanin	+
Flavonoid	+
Triterpenoid	-
Steroid	-

keterangan: (+): Positif, (-): Tidak ada / Negatif

Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kental Buah Bisbul

Aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH dipilih karena metode tersebut lebih sederhana dan waktu yang digunakan lebih singkat. Penetapan antioksidan dengan menggunakan DPPH jika dilakukan secara kualitatif dapat dilihat dari perubahan warna dari ungu menjadi kuning. Hal ini terjadi karena ketika elektron radikal bebas DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) berpasangan dengan sebuah hidrogen dari penangkap radikal bebas suatu antioksidan. Radikal bebas DPPH akan ditangkap oleh senyawa antioksidan melalui

reaksi penangkapan atom hidrogen dari senyawa antioksidan oleh radikal bebas untuk mendapatkan pasangan elektron dan mengubahnya menjadi difenil pikril hidrazin (DPPH-H) [11]. Jika pengukuran secara kualitatif dapat dilihat melalui warna maka pengukuran secara kuantitatif dapat dilakukan dengan menggunakan alat spektrofotometri UV-Vis. Dengan menggunakan alat tersebut akan didapatkan data berupa absorbansi yang akan dihitung dengan menggunakan regresi linier sehingga akan didapatkan nilai IC₅₀. Sebelum diukur terlebih dahulu mencari panjang gelombang maksimum, hal ini

bertujuan agar hasil serapan yang dihasilkan juga maksimal, pada pengukuran panjang gelombang maksimum didapat λ_{maks} 516 nm.

Hasil penetapan antioksidan dari ekstrak kental buah bisbul dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Aktvitas Antioksidan Ekstrak Buah Bisbul

Sampel	Nilai IC ₅₀ (ppm)	Kategori
Ekstrak Buah Bisbul	53,51	Kuat
Vitamin C	2,38	Sangat kuat

Kadar Total Fenol Ekstrak Kental Buah Bisbul

Penetapan fenol ini dilakukan dengan metode *Folin Ciocalteu*. Metode *Folin ciocalteu* adalah metode populer yang paling banyak digunakan oleh peneliti untuk menentukan kandungan total fenol dari suatu makanan atau buah. Metode ini tidak dapat digunakan untuk menentukan senyawa fenol jenis tertentu secara spesifik, tetapi hanya akan mendeteksi semua jenis senyawa fenol yang terdapat dalam ekstrak tanaman [12]. Reagen Folin Ciocalteu digunakan karena senyawa fenolik dapat bereaksi dengan Folin membentuk larutan berwarna yang dapat diukur absorbansinya pada spektrofotometer uv-sinar tampak. Perbandingan yang digunakan adalah asam galat, karena asam galat merupakan turunan dari asam hidroksibenzoat dimana asam hidroksibenzoat ini merupakan asam fenol yang sederhana [13].

Pada pengukuran asam galat dengan variasi konsentrasi 5, 10, 15, 20, dan 25 ppm diperoleh persamaan garis yang linier dan didapatkan hasil persamaan regresi linier. Sebelum diukur terlebih dahulu mencari panjang gelombang maksimum, hal ini bertujuan agar hasil serapan yang dihasilkan juga maksimal, pada pengukuran panjang gelombang maksimum didapat λ_{maks} 642,0 nm. Hasil panjang gelombang maksimal dapat dilihat pada Lampiran 8. Untuk menghitung kadar fenol dari sampel dilakukan dengan cara memasukkan nilai absorbansi sampel ke dalam persamaan regresi kurva asam galat. Dari hasil penelitian ini didapatkan nilai dari penetapan total fenol adalah 60,05 mg GAE/ gram.

Senyawa Aktif Antioksidan Ekstrak Buah Bisbul

Perlu dilakukan isolasi senyawa yang mengandung aktivitas antioksidan. Hal pertama yang dilakukan adalah dengan menentukan

eluen yang akan digunakan untuk kromatografi kolom, cara menentukan eluen tersebut adalah dengan menggunakan metode KLT (Kromatografi Lapis Tipis) yaitu dengan cara menotolkan ekstrak kental pada plat KLT lalu dimasukkan ke dalam chamber yang sudah diisi dengan eluen kloroform: metanol dengan perbandingan 20:1, 10:1, 5:1, dan 1:1, lalu dilihat pada sinar UV 254 nm. Sebelumnya telah dilakukan pencarian dengan berbagai eluen seperti diklorometana, toluen, etil asetat, dan *n*-hexan. Dan dari semua pelarut yang telah dicoba didapatkan eluen kloroform: metanol. Dari keempat perbandingan ini didapatkan bahwa pelarut kloroform: metanol dengan 10:1 memberikan hasil pemisahan yang lebih baik dari perbandingan lainnya. Selanjutnya akan dilakukan pemisahan antara senyawa target dengan senyawa yang lainnya dengan menggunakan kromatografi kolom. Pada kromatografi kolom dilakukan dengan memasukkan kapas ke dalam kolom dan diletakkan di dasar kolom. Fase diam yang digunakan adalah silika gel dengan dibuat menjadi bubuk dengan disuspensikan dalam eluen yaitu kloroform: metanol 10:1, kemudian dimasukkan ke dalam kolom dan dikondisikan agar tidak terdapat gelembung atau rongga udara.

Ekstrak dimasukkan ke dalam kolom kemudian dibasahi dengan fase geraknya, eluat yang keluar ditampung dengan menggunakan vial. Setelah itu senyawa akan turun bergantung dari tingkat kepolaran dari senyawa tersebut. Senyawa yang bersifat *non*-polar akan terlebih dahulu turun dibanding senyawa yang bersifat polar hal ini dikarenakan silika gel yang dipakai dalam kromatografi kolom ini cenderung bersifat polar, sehingga senyawa yang polar akan tertahan terlebih dahulu dibanding senyawa yang bersifat *non*-polar. Senyawa yang turun akan ditampung dalam vial. Dari hasil kromatografi kolom ini didapatkan 5

fraksi yang ditampung pada vial berukuran 20 mL. Setelah didapatkan 5 fraksi, dilakukan bioautografi DPPH dimana ke-5 fraksi tersebut akan ditotolkan pada plat KLT lalu disemprot dengan menggunakan larutan DPPH 40 ppm dan akan dilihat perubahan warna nya, fraksi yang memiliki bercak dengan warna yang sama akan dicampurkan. Setelah dilakukan bioatografi DPPH, fraksi yang positif mengandung antioksidan dilakukan pemisahan senyawa target dengan senyawa yang lain dengan menggunakan kromatografi lapis tipis preparatif dengan cara, fraksi 2 dan 3 ditotolkan pada plat KLT setelah itu plat dimasukkan ke dalam chamber yang sebelumnya sudah diisi dengan eluen, eluen yang digunakan pada pemisahan ini adalah kloroform : etil asetat : metanol dengan perbandingan 30 : 15 : 2. Eluen yang diisi ke dalam chamber dijenuhkan terlebih dahulu sebelum plat KLT masuk ke dalam chamber. Sebelumnya telah dilakukan pencarian dengan berbagai eluen seperti diklorometana, toluen, etil asetat, dan n-hexan. Dan dari semua pelarut yang telah dicoba didapatkan eluen kloroform: etil asetat : metanol. Dari hasil yang didapat fraksi 2 memiliki pemisahan bercak yang baik sehingga fraksi 2 yang akan dilakukan pemisahan senyawa target dengan senyawa yang lain. Setelah itu kedua bercak tersebut dikerok lalu dilarutkan dengan eluen yang sama seperti yang digunakan dalam kromatografi lapis tipis yang sebelumnya. Setelah itu kedua bercak tersebut ditotolkan kembali pada plat KLT dan di elusi kembali.

Elusi bercak ke-1 tidak ditemukan bercak berwarna kuning kecoklatan yang artinya tidak ditemukan senyawa antioksidan pada bercak yang ke-1, sedangkan pada bercak ke-2 ditemukan bercak berwarna kuning kecoklatan yang artinya terdapat suatu zat antioksidan di bercak tersebut. Setelah itu bercak ke-2 di kerok dan di larutkan kembali dengan eluen yang sama seperti sebelumnya, setelah larut kemudian disaring, lalu larutan tersebut ditotolkan pada plat KLT, kemudian dielusi dan

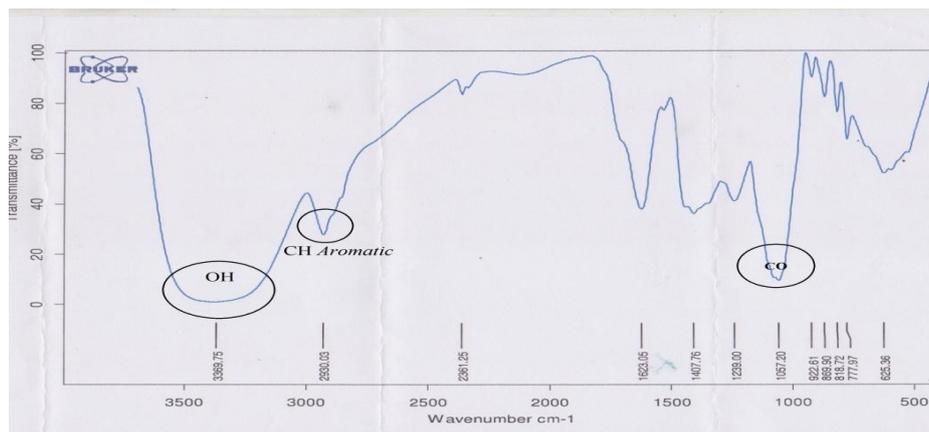
dikerok kembali, hal ini dilakukan pengulangan sebanyak 3x. Setelah itu larutan tersebut dipisahkan dan sudah dapat diuji dengan menggunakan spektrofotometer FTIR dan LC-MS.

Karakteristik Senyawa Aktif Antioksidan Spektrum Spektroskopi FTIR Golongan Senyawa Aktif

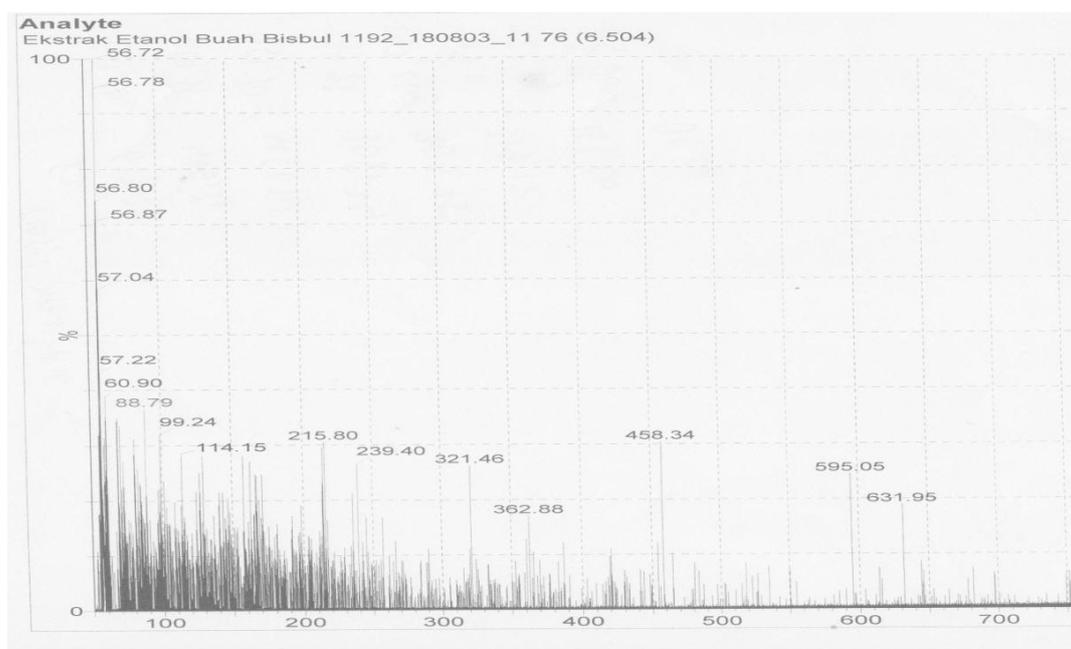
Hasil analisa menggunakan spektroskopi FTIR dan dilihat dari Gambar 1, menunjukkan adanya serapan di panjang gelombang 3369,75 cm⁻¹ dengan intensitas yang kuat serta dengan bentuk yang melebar, yang mengindikasikan adanya gugus OH. Selanjutnya terdapat adanya serapan di panjang gelombang 2930,03 cm⁻¹ yang mengindikasikan adanya C-H. Adanya serapan pada 1623,05 yang mengindikasikan adanya C=C. Adanya serapan pada 1057,20 cm⁻¹ yang mengindikasikan adanya C-O, menurut Pavia et al (2001) dapat disimpulkan bahwa hasil dari spektroskopi FTIR senyawa yang di hasilkan kemungkinan senyawa fenol atau alkohol [14].

Spektrum Spektroskopi LC – MS Senyawa Aktif Antioksidan

Pada hasil LC-MS didapatkan spektrum LC-MS yang dapat dilihat pada Gambar 2. Pada waktu retensi 6,50 didapatkan senyawa dengan Mr 631,95, pemilihan waktu retensi 6,50, disesuaikan dengan hasil interpretasi dari spektrum FTIR. Hasil analisa dari spektrum LC – MS terdapat 17 fragmen yaitu 631,95; 595,05; 458,34; 362,88; 321,46; 239,40; 215,80; 114,15; 99,24; 88,79; 60,90; 57,22; 57,04; 56,87; 56,80; 56,78; 56,72. Setelah melihat hasil interpretasi antara spektrum FTIR dengan LC-MS, didapatkan senyawa yang kemungkinan mirip dengan senyawa yang berada pada buah bisbul yaitu senyawa Goshonoside F4. Senyawa ini merupakan senyawa dari konstituen dari buah raspberry. Kemiripan ini dapat dilihat pada pecahan fragmen antara senyawa buah bisbul dengan senyawa Goshonoside F4.



Gambar 1. Spektrum FTIR senyawa aktif



Gambar 2. Spektrum LC-MS Ekstrak Buah Bisbul

SIMPULAN

Berdasarkan data penelitian yang didapatkan bahwa Ekstrak Etanol 96% dari Buah Bisbul (*Diospyros discolor*. Wild) memiliki senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, dan saponin. Aktivitas antioksidan yang kuat dengan IC_{50} 53,51 ppm dengan

vitamin C sebagai kontrol positif dengan IC_{50} sebesar 2,38ppm. Kadar total fenol sebesar 60,05 mgGAE/gram. Senyawa antioksidan yang didapat kemungkinan Goshonoside F4.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Winarsi, H. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Yogyakarta: Kanisus.
- [2] Droge W. 2002. Free Radicals in the Physiological Control of Cell Function. *Physiol rev.* 82(1): 47-95.
- [3] Osawa, S., Thomas H.J., Watanabe, K., Muto A. 1992. Recent Evidence for Evolution of The Genetic. *Journal Microbial Rev.* 56 (1): 229-264.
- [4] Sunarni, T. 2005. Aktivitas Antioksidan Penangkap Radikal Bebas Beberapa kecambah Dari Biji Tanaman Familia

- Papilionaceae. *Jurnal Farmasi Indonesia*. 2(2): 53-61.
- [5] Howlader, M. D, Sariful Islam, Rahman, M, M, Khalipha, A. B. R, Ahmed, F. 2012. Antioxidant and Antidiarrhoeal Potentiality of *Diospyrosblancoi*. *International Journal of Pharmacology* . 8 (5): 403-409.
- [6] Fermadianto, M. 2017. Formulasi dan Evaluasi Fisik Sediaan Krim Ekstrak Etanol Buah Bisbul (*Diospyros blancoi*) Sebagai Krim Tabir Surya [skripsi]. Bogor: Sekolah Tinggi Teknologi Industri dan Farmasi Bogor.
- [7] Duh, P., Tu, Y. and Yen, G. 1999. Antioxidant activity of water extract of Harnng Iyur (*Chrysanthemummorifolium Ramat*). *Lebensm Wiss U Technol*. 32: 269-277.
- [8] Damogalad, V., Edy, H. J, dan Supriati, H. S. 2013. Formulasi Krim Tabir Surya Ekstrak Kulit Nanas (*Anonas winosus L MERR*) dan Uji In Vitro Sun Protecting Faktor (SPF). *Pharmacon Jurnal Ilmiah Farmasi*. 2(2): 39-43.
- [9] [Depkes] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat Edisi I*. Jakarta: Dirjen POM RI.
- [10] Hanani, E. 2016. *Analisis Fitokimia*. Jakarta: Buku Kedokteran EGC.
- [11] Milauskas. 2003. Screening Of Radical Scavenging Activity Of Some Medical And Aromatic Plan Extract. *Book on Food Chemistry*.
- [12] Waterhouse, A. L. 2005. *Determination of Total Phenolics*. In: *Handbook of Food Analytical Chemistry: Pigments, Colorants, Flavors, Texture, and bioactive Food Components*. John Wiley & Sons Incorporated.
- [13] Alfian, R., Susanti, H. 2012. Penetapan kadar fenolik total ekstrak metanol kelopak bunga rosella merah (*Hibiscus sabdariffa* Linn) dengan variasi tempat tumbuh secara spektrofometri. *Jurnal Ilmiah Kefarmasian*. 2 (1): 73-80.
- [14] Pavia, L.D, et al. 2001. *Introduction to Spectroscopy*. Singapore:Thompson Learning.