

**KARAKTERISASI SENYAWA FENOL DARI FRAKSI TERPILIH DAUN SUKUN
(*Artocarpus altilis* (Parkinson) Fosberg) KUNING NEMPEL
SEBAGAI ANTIOKSIDAN**

Hesti Riasari, A. Zainuddin, Dini Yulia Handayani

Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia

Abstrak

Tumbuhan sukun (*Artocarpus altilis*) banyak dijumpai di Indonesia. Penelitian terdahulu menyatakan bahwa ekstrak metanol daun sukun kuning nempel memiliki aktivitas antioksidan. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui fraksi daun sukun kuning nempel yang memberikan aktivitas antioksidan paling baik, serta mengisolasi senyawa tersebut. Daun sukun kuning nempel diekstraksi menggunakan metode maserasi dan difraksinasi menggunakan metode ekstraksi cair-cair, sehingga diperoleh fraksi n-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air untuk dilakukan pengujian aktivitas antioksidan dengan metode DPPH. Fraksi etil asetat menunjukkan hasil paling baik dengan IC_{50} sebesar 17,11 dibandingkan dengan IC_{50} fraksi n-heksan sebesar 26,16 dan IC_{50} fraksi air sebesar 20,68 sehingga dilakukan pemisahan lebih lanjut pada fraksi etil asetat. Hasil identifikasi isolat 1 menggunakan spektrofotometri UV-Vis menunjukkan panjang gelombang 291 nm yang diduga merupakan senyawa fenol. Dan isolat 2 menunjukkan panjang gelombang 320 nm pada pita I dan pita II 276 nm yang merupakan ciri khas senyawa flavanon. Hasil diperkuat dengan penambahan pereaksi geser dan FTIR yang menunjukkan adanya gugus OH, gugus CH alifatik, ikatan rangkap C=O, gugus C=C aromatik dan gugus C-O pada isolat 2. Hal tersebut membuktikan bahwa isolat 2 merupakan senyawa fenol golongan flavonoid yaitu flavanon yang memiliki aktivitas antioksidan.

Kata kunci : Daun sukun, antioksidan, DPPH, isolasi, flavanon

Abstract

*Plant breadfruit (*Artocarpus altilis*) found in Indonesia. According to the previous research the methanol extract of leaves of breadfruit yellow has antioxidant activity. The purpose of this research is to know the fraction of breadfruit attached yellow leaves was given the most excellent antioxidant activity, and isolating the compound. Leaves of breadfruit attached yellow extracted using maceration method and fractionation method using liquid-liquid extraction, obtained the n-hexan fraction, ethyl acetate fraction and the water fraction for tested antioxidant activity with DPPH method. Ethyl acetate fraction shows the best results with IC_{50} 17.11 compared with IC_{50} n-hexan fraction 26.16 and IC_{50} water fraction 20.68 so that further separation carried out on ethyl acetate fraction. The results of isolates 1 identification used spectrophotometry UV-Vis a wavelength 291 nm was suspected phenol compound. And isolates 2 shows wavelength 320 nm the band I and band II 276 nm which is characteristic of the flavanon compound. The results reinforced with the addition of shift reagent and FTIR that indicate the presence of hydroxyl OH, aliphatic CH, double bond C = O, C = C aromatic and group of C-O of isolates 2. It proves that isolates 2 is phenol compound, flavonoid group, namely flavanon which has antioxidant activity.*

Keywords: Breadfruit leaves, antioxidant, DPPH, isolation, flavanon

PENDAHULUAN

Keanekaragaman tumbuhan yang terdapat di Indonesia merupakan salah satu kekayaan alam yang perlu untuk dilestarikan, mengingat peranan dan khasiat dari tumbuhan tersebut yang dapat memberikan manfaat bagi kehidupan masyarakat berupa pemeliharaan kesehatan dan pengobatan. Di Indonesia beberapa spesies *Artocarpus* digunakan sebagai obat tradisional (Hano, *et al.*, 1994).

Salah satu tanaman yang berkhasiat sebagai obat yang sering digunakan masyarakat Indonesia secara tradisional adalah *Artocarpus altilis* (Parkinson) Fosberg, termasuk dalam famili Moraceae yang sering dikenal sebagai *bread fruit* atau sukun. Sukun tumbuh pada daerah tropis dan banyak dijumpai di Indonesia, Thailand, Vietnam, dan Cambodia. Buahnya mengandung karbohidrat, asam amino esensial seperti histidin, isoleusin, lisin, metionin, triptofan, dan valin. Daun tanaman sukun mengandung β -sitosterol dan golongan flavonoid yang berkhasiat sebagai obat kardiovaskular (Kan, 1978; Dalimartha, 2003).

Daun sukun mengandung komponen bioaktif flavonoid yang secara ilmiah telah terbukti mempunyai aktivitas antioksidatif secara *in vivo* (Mu'nisa, *et al.*, 2011). Flavonoid merupakan salah satu golongan fenol alam terbesar. Sebenarnya terdapat pada semua tumbuhan hijau sehingga pastilah ditemukan pula pada setiap ekstrak tumbuhan (Markham, 1988).

Kemampuan flavonoid sebagai antioksidan telah banyak diteliti belakangan ini karena memiliki kemampuan untuk merubah atau mereduksi radikal bebas dan juga sebagai anti radikal bebas (Mu'nisa, *et al.*, 2011).

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat mencegah terbentuknya radikal bebas dan dapat menghambat reaksi oksidasi dengan cara mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif (Seftyanisa, 2013). Beberapa antioksidan yang berasal dari bahan alami telah terbukti dan banyak digunakan sebagai agen penangkal terhadap stres oksidatif pada berbagai jenis penyakit (Mu'nisa, *et al.*, 2011). Kebanyakan sumber antioksidan alami adalah tumbuhan dan umumnya merupakan senyawa fenolik yang tersebar di seluruh bagian tumbuhan baik di kayu, biji, daun, buah, akar, bunga, maupun serbuk sari (Sarastani, *et al.*, 2002).

Berdasarkan beberapa penelitian, daun sukun (*Artocarpus altilis* (Parkinson) Fosberg) memiliki efek antioksidan. Senyawa antioksidan yang diisolasi dari ekstrak etil asetat daun sukun merupakan suatu senyawa golongan aglikon flavonol (Seftyanisa, 2013). Ekstrak metanol memiliki kandungan flavanoid dan aktivitas antioksidan (Mu'nisa, *et al.*, 2011).

Dari hasil penelitian yang dilakukan oleh Riasari (2014) menyatakan bahwa ekstrak metanol dari daun sukun kuning nempel memiliki aktivitas antioksidan. Serta adanya senyawa fenol golongan flavonoid berupa khalkon, auron,

flavanon, flavonol, atau antosianidin yang memiliki aktivitas antioksidan. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui senyawa yang terkandung didalam daun sukun kuning nempel yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan.

METODOLOGI

Alat

Alat yang digunakan adalah tabung maserator, corong, kertas saring, timbangan analitik (*Henherr*[®]), tanur (*Branstead Thermolyne*), krus, oven (*Memmert*), desikator, tabung reaksi (*pyrex*), rak tabung, plat tetes, rotary vaporator (*IKA*[®]), cawan penguap, chamber, plat silica gel GF 254 (*Merck KGaA*), labu pisah (*Pyrex*), kolom, lemari pendingin (*Polytron*[®]), vial, batang pengaduk, spatel, penjepit tabung, pipa kapiler, pipet volume (*Pyrex*), alat gelas kimia (*Pyrex*), pipet tetes, kaca 10x10 cm, lampu UV (*camag*), Spektrofotometri UV-Vis (*Shimadzu*), spektrofotometri FTIR (*Thermo Scientifict Nicolet Is5*).

Bahan

Bahan tumbuhan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun sukun (*Artocarpus altilis* (Parkinson) Forberg) berwarna kuning yang diperoleh dari daerah Cipamokolan Bandung.

Bahan kimia yang digunakan adalah metanol, etil asetat, n-heksan, etanol, aluminium klorida 5%, ammonia, sitroborat, FeCl₃, DPPH, asam asetat 15

%, H₂SO₄ 10%, n- butanol, vitamin C, silika gel 60, silika gel 60HGF₂₅₄, akuades, natrium metoksida, HCl 50 %, natrium asetat anhidrat, asam borat anhidrat, pereaksi untuk skrining fitokimia.

Determinasi Tumbuhan

Tumbuhan Sukun dideterminasi di Herbarium Sekolah Ilmu Teknologi Hayati (SITH), Institut Teknologi Bandung.

Pengumpulan dan Pengolahan Tumbuhan

Daun sukun kuning nempel dikumpulkan, dicuci, disortasi, dikeringkan pada suhu ruangan 25-30°C, terlindung cahaya matahari secara langsung dan diblender.

Karakterisasi Simplisia

Karakterisasi dilakukan terhadap simplisia daun sukun kuning nempel yang meliputi karakterisasi makroskopik, penetapan kadar abu, penetapan kadar sari larut air, penetapan kadar sari larut etanol, pengujian sesuai dengan cara Depkes RI, 1989.

Ekstraksi

Simplisia ditimbang sebanyak 600 gram. Kemudian di ekstraksi menggunakan pelarut metanol dengan metode maserasi selama 3 x 24 jam. Ekstrak ditampung, kemudian dikentalkan menggunakan *rotary vaporator* sehingga diperoleh ekstrak kental.

Fraksinasi

Fraksinasi dilakukan dengan metode ECC (Ekstraksi Cair Cair) secara bertingkat menggunakan corong pisah. Sebanyak 40 gram ekstrak kental metanol dilarutkan dalam air, kemudian diekstraksi dengan pelarut n-heksan (1:1) sehingga terbentuk lapisan n-heksan dan air, dikocok perlahan. Fraksi n-heksan dipisahkan, kemudian pada fraksi air diulangi beberapa kali sampai dihasilkan hasil yang maksimal. Selanjutnya, pada fraksi air diekstraksi kembali menggunakan etil asetat dengan proses yang sama dengan n-heksan. Sehingga diperoleh fraksi n-heksan cair, fraksi etil asetat cair dan fraksi air, masing-masing fraksi dikentalkan menggunakan *rotary vaporator*.

Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan terhadap ekstrak dan fraksi daun sukun kuning nempel yang meliputi alkaloid, flavonoid, tannin, fenolat, triterpenoid, steroid, kuinon, saponin. Adapun tahapannya sesuai dengan Depkes RI, 1989.

Pengujian Kualitatif Antioksidan Pada Ekstrak dan Fraksi Daun Sukun Kuning Nempel

Ekstrak dan masing-masing fraksi di KLT dan dianalisis dengan menggunakan pereaksi semprot DPPH 0,04 % (Komariah, 2013). Hasil KLT kemudian diangin-anginkan dan diperiksa di bawah sinar UV pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm.

Pengujian Kuantitatif Aktivitas Antioksidan Fraksi Daun Sukun Kuning Nempel

Pembuatan larutan DPPH 50 ppm dibuat dengan cara menimbang DPPH sebanyak 5 mg dilarutkan dengan 100 ml metanol dalam labu terukur (Brand-Williams, *et al.*, 1995). Pembuatan larutan sampel yaitu sebanyak 2,5 mg fraksi kental n-heksan, fraksi kental etil asetat, dan fraksi kental air daun sukun kuning nempel, masing-masing dilarutkan dalam metanol sambil diaduk dan dihomogenkan lalu dicukupkan volumenya hingga 50 ml. Selanjutnya dibuat variasi konsentrasi 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, dan 40 ppm (Brand-Williams, *et al.*, 1995).

Pembuatan larutan pembanding dibuat dengan cara menimbang sebanyak 2,5 mg vitamin C, kemudian dilarutkan dalam metanol sambil diaduk dan dihomogenkan lalu dicukupkan volumenya hingga 100 ml. Selanjutnya dibuat variasi konsentrasi 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm dan 8 ppm (Brand-Williams, *et al.*, 1995).

Pengukuran absorbansi DPPH dilakukan dengan memipet 4 ml DPPH menggunakan spektrofotometri UV-VIS. Pengujian sampel dilakukan dengan memipet 1 ml larutan sampel dari berbagai konsentrasi (10 ppm, 20 ppm, 30 ppm dan 40 ppm). Kemudian masing-masing ditambahkan 2 ml DPPH dan diinkubasi selama 30 menit. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 516 nm, pengukuran

dilakukan secara triplo (Brand-Williams, *et al.*, 1995; Riasari, 2014).

Pengujian larutan pembanding dilakukan dengan memipet 1 ml larutan vitamin C dari berbagai konsentrasi (2 ppm, 4 ppm, 6 ppm dan 8 ppm). Kemudian masing-masing ditambahkan 2 ml DPPH dan diinkubasi selama 30 menit. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 516 nm, pengukuran dilakukan secara triplo (Brand-Williams, *et al.*, 1995; Riasari, 2014).

Kapasitas antioksidan masing-masing fraksi ditentukan berdasarkan pengurangan absorbansi DPPH dengan menghitung persentase aktivitas antioksidan (Bedawey, *et al.*, 2010). Nilai serapan larutan DPPH terhadap sampel tersebut dinyatakan dengan persen inhibisi (% inhibisi) dengan persamaan sebagai berikut:

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{(\text{Abs}_{\text{kontrol}} - \text{Abs}_{\text{sampel}})}{\text{Abs}_{\text{kontrol}}} \times 100\%$$

Ket: $\text{Abs}_{\text{kontrol}}$ = Absorbansi kontrol setelah 30 menit

$\text{Abs}_{\text{sampel}}$ = Absorbansi sampel setelah 30 menit

Pemantauan Kromatografi Lapis Tipis Daun Sukun Kuning Nempel

Ekstrak, fraksi, subfraksi, dan subsubfraksi daun sukun (*Artocarpus altilis* (Parkinson) Forberg) kuning nempel yang diperoleh dilakukan pemantauan menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Kemudian hasil KLT dianalisis menggunakan pereaksi semprot Sitroborat, AlCl_3 5%, uap ammonia, FeCl_3 , H_2SO_4 10%

dengan pemanasan dan DPPH. Hasil KLT kemudian diangin-anginkan dan diperiksa di bawah sinar UV pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm.

Isolasi Senyawa Aktif Antioksidan dengan Kromatografi Kolom

Fraksi terpilih yang memiliki aktivitas antioksidan paling baik kemudian dilakukan pemisahan dengan metode Kromatografi Kolom, dengan tinggi kolom 40 cm dan diameter kolom 2 cm menggunakan eluen dengan sistem gradien kepolaran. Fase diam yang digunakan pada kromatografi kolom adalah silika gel 60 sebanyak 40 g dan fase gerak yang digunakan adalah n-heksan : etil asetat dan etil asetat : metanol. Sampel sebanyak 1 g terlebih dahulu digerus dengan silika gel 60 sebanyak 2,12 g sampai homogen. Setelah itu, sampel dimasukkan ke dalam kolom yang telah berisi fase diam. Fase gerak ditambahkan secara kontinyu sampai terjadi pemisahan. Eluat ditampung pada vial yang telah ditimbang dan diberi label. Kemudian keseluruhan fraksi yang dihasilkan dilakukan KLT secara acak.

Pemurnian Isolat dengan Kromatografi Lapis Tipis Preparatif

Subfraksi paling aktif dimurnikan dengan menggunakan metode KLT preparatif dengan fase diam silika gel 60 H GF₂₅₄ dan fase gerak n-heksan : etil asetat (7:3). Kemudian dideteksi dibawah sinar UV 366 nm. Bercak yang terbentuk dikerok dan dilarutkan dengan pelarut yang

sesuai, kemudian isolat dipisahkan dari silika gelnya dan ditampung pada vial.

Uji Kemurnian Isolat dengan Kromatografi Lapis Tipis Dua Dimensi

Isolat yang diperoleh diuji kemurniannya menggunakan KLT dua dimensi dengan 2 macam pengembang yang berbeda yaitu KLT kesatu menggunakan pengembang pertama n-heksan : etil asetat (7:3) dengan pengembang kedua etil asetat : metanol (9:1) dan KLT kedua menggunakan pengembang pertama n-heksan : etil asetat (7:3) dengan pengembang kedua n-butanol : asam asetat : air (4:5:1). Kemudian dideteksi dibawah sinar UV 254 nm dan UV 366 nm.

Identifikasi Isolat

Isolat yang diperoleh kemudian diidentifikasi dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 200–800 nm dan spektrofotometri FT-IR. Identifikasi isolat dilakukan secara spektrofotometri UV menggunakan pereaksi geser (*shift reagent*) (Markham, 1988; Mabry, *et al.*, 1970).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Determinasi Tumbuhan

Hasil determinasi tumbuhan yang dilakukan di Herbarium Determinasi Sekolah Ilmu Teknologi Hayati (SITH) ITB menunjukkan bahwa jenis tumbuhan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun

sukun *Artocarpus altilis* (Parkinson) Fosberg.

Pengumpulan dan Pengolahan Tumbuhan

Daun sukun (*Artocarpus altilis* (Parkinson) Forberg) berwarna kuning yang diperoleh dari daerah Cipamokolan Bandung dikumpulkan, dibersihkan, dan dikeringkan untuk mengurangi kadar air daun. Setelah kering, daun dihancurkan hingga menjadi serbuk untuk memperluas bidang kontak dengan pelarut sehingga seluruh metabolit sekunder dapat tersari.

Karakterisasi Simplisia

Hasil pemeriksaan makroskopik simplisia daun sukun kuning nempel adalah daunnya tunggal, berseling, ujung runcing, tepi bertoreh, panjang 50-70 cm, lebar 25-50 cm, pertulangan menyirip, tebal, permukaan kasar, dan berwarna kuning. Hasil karakterisasi simplisia yang dilakukan diperoleh kadar abu simplisia sebesar 25,50 %. Hal ini menunjukkan gambaran kandungan unsur mineral dan anorganik yang terkandung dalam simplisia (Riasari, 2014). Penetapan kadar sari menunjukkan kelarutan yang paling baik. Hasil yang diperoleh dari penetapan kadar sari larut etanol sebesar 2,80 % dan kadar sari larut air sebesar 3,00 %, berarti lebih banyak senyawa yang tertarik oleh air dibandingkan dengan etanol. Hal tersebut menunjukkan bahwa senyawa yang terkandung didalam daun sukun kuning nempel banyak mengandung senyawa

dengan kepolaran tinggi. Senyawa tersebut kemungkinan adalah senyawa polar seperti flavonoid yang terikat dengan gula (Riasari, 2014).

Ekstraksi dan Fraksinasi

Sebanyak 600 gram serbuk simplisia daun sukun (*Artocarpus altilis* (Parkinson) Forberg) kuning nempel diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut metanol. Metode maserasi dipilih karena untuk mencegah rusaknya metabolit sekunder yang tidak tahan terhadap suhu tinggi. Setelah diperoleh ekstrak kental, kemudian sebanyak 40 gram ekstrak metanol dilakukan pemisahan berdasarkan kepolarannya dengan menggunakan ekstraksi cair – cair. Pelarut dengan kepolaran bertingkat yaitu n-heksan, etil asetat, dan air menghasilkan 3 fraksi yaitu fraksi n-heksan, fraksi etil

asetat, dan fraksi air. Hasil pengujian dapat dilihat di Tabel 1.

Rendemen tertinggi diperoleh dari fraksi air sebesar 13,12 % dan terendah yaitu fraksi etil asetat sebesar 5,92 %. Hal ini menunjukkan bahwa komponen senyawa yang terdapat di dalam daun sukun kuning nempel lebih banyak terekstraksi dengan pelarut air dibandingkan dengan pelarut lainnya. Fraksi air merupakan fraksi polar, sehingga senyawa-senyawa yang tertarik berarti bersifat polar.

Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan terhadap ekstrak dan fraksi daun sukun kuning nempel dan bertujuan untuk mengidentifikasi golongan senyawa yang terdapat pada daun sukun kuning nempel. Hasil pengujian dapat dilihat pada Tabel 2. Berdasarkan hasil skrining fitokimia

Tabel 1. Hasil perhitungan % rendemen ekstrak dan fraksi daun sukun (*Artocarpus altilis* (Parkinson) Forberg) kuning nempel

No	Daun Sukun Kuning Nempel	Berat yang diperoleh	% Rendemen
1.	Ekstrak Kental Metanol	49,75gram	8,29 %
2.	Fraksi N-Heksan	4,98 gram	12,45 %
3.	Fraksi Etil Asetat	2,37 gram	5,92 %
4.	Fraksi Air	5,25 gram	13,12 %

Tabel 2. Hasil skrining fitokimia ekstrak dan fraksi daun sukun kuning nempel

Golongan	Ekstrak metanol	Fraksi		
		N - heksan	Etil asetat	Air
Alkaloid	-	-	-	-
Flavonoid	+	+	+	+
Tanin	+	-	-	+
Fenolat	+	-	+	+
Steroid	+	+	+	-
Triterpenoid	-	-	-	-
Kuinon	+	+	+	+
Saponin	-	-	-	-

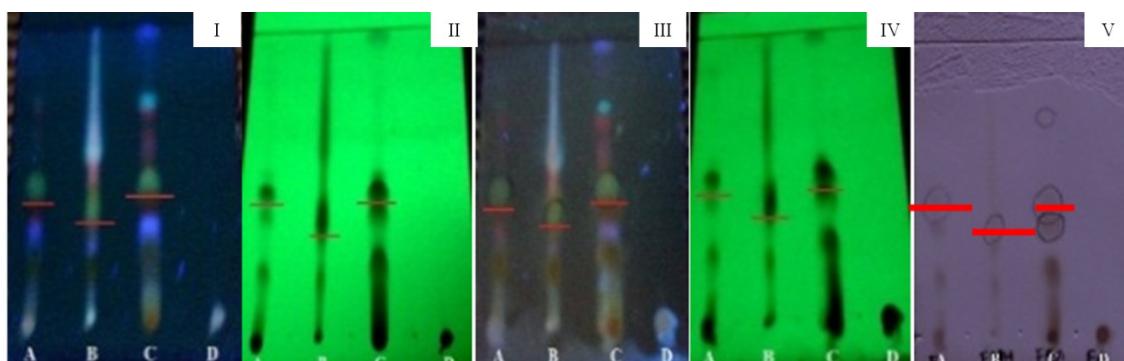
ekstrak metanol dan fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, fraksi air positif mengandung flavonoid dan fenolat kecuali fraksi n-heksan negatif mengandung senyawa fenolat.

Pengujian Kualitatif Aktivitas Antioksidan Fraksi Daun Sukun (*Artocarpus altilis* (Parkinson) Forberg) Kuning Nempel

Masing-masing fraksi yang diperoleh dilakukan pemantauan menggunakan KLT plat silika gel GF₂₅₄ dengan pelarut n-heksan : etil asetat (7:3). Hasil KLT masing-masing fraksi dianalisis dengan menggunakan pereaksi semprot DPPH untuk mengidentifikasi adanya aktivitas antioksidan. Setelah disemprot DPPH, plat KLT didiamkan selama 30 menit dan dilihat dibawah sinar UV 366 dan sinar UV 254. Hasil pengujian kualitatif antioksidan pada fraksi daun

sukun kuning nempel dapat dilihat pada gambar 1.

Dari hasil pengamatan di atas, menunjukkan adanya aktivitas antioksidan pada ekstrak dan masing-masing fraksi daun sukun (*Artocarpus altilis*(Parkinson) Forberg) kuning nempel. Hal tersebut ditunjukkan dengan melihat perubahan warna bercak setelah disemprot dengan DPPH, dimana bercak yang dihasilkan berwarna kuning dengan latar belakang berwarna ungu yang diduga menunjukkan adanya senyawa yang aktif sebagai antioksidan. Dengan nilai Rf pada ekstrak metanol sebesar 0,45, pada fraksi n-heksan sebesar 0,37 dan pada fraksi etil asetat sebesar 0,45. Senyawa antioksidan akan bereaksi dengan radikal DPPH melalui mekanisme donasi atom hidrogen dan menyebabkan terjadinya peluruhan warna dari ungu ke kuning (Molyneux, 2004).



Gambar 1. Hasil KLT dengan pereaksi semprot DPPH (A) Ekstrak metanol daun sukun kuning nempel, (B) Fraksi n-heksan daun sukun kuning nempel, (C) Fraksi etil asetat daun sukun kuning nempel, (D) Fraksi air daun sukun kuning nempel, fase diam silika gel 60 GF₂₅₄, pengembang n-heksana :etilasetat (7:3) (I) Tanpa disemprot DPPH dibawah sinar UV 366, (II) Tanpa disemprot DPPH dibawah sinar UV 254, (III) Sesudah disemprot DPPH dibawah sinar UV 366, (IV) Sesudah disemprot DPPH dibawah sinar UV 254, (V) Sesudah disemprot DPPH secara visual

Pengujian Kuantitatif Aktivitas Antioksidan Fraksi Daun Sukun (*Artocarpus altilis* (Parkinson) Forberg) Kuning Nempel

Setiap fraksi yang diperoleh yaitu fraksi n-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air, dilakukan pengujian aktivitas antioksidan menggunakan 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH). Pengukuran dilakukan pada panjang gelombang 516 nm yang merupakan panjang gelombang serapan dari DPPH pada pengujian aktivitas antioksidan (Riasari, 2014). Hasil pengukuran absorbansi DPPH sampel pada panjang gelombang 516 nm adalah 0,5628, sedangkan pembanding vitamin C adalah 0,7264. Kemudian pengujian dilakukan pada masing-masing sampel dengan menambahkan 1 ml sampel dan 2 ml larutan DPPH. Hasil pengujian dapat dilihat pada tabel 3.

Dari hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa fraksi etil asetat memiliki IC₅₀ lebih kecil dibandingkan dengan fraksi n-heksan dan air yaitu sebesar 17,11 sedangkan fraksi n-heksan sebesar 26,16 dan fraksi air sebesar 20,68. Hal tersebut menunjukkan bahwa fraksi etil asetat memiliki aktivitas antioksidan paling baik dibandingkan dengan fraksi N-heksan dan fraksi air. IC₅₀ pembanding vitamin C diperoleh sebesar 2,25 lebih kecil dibandingkan dengan IC₅₀ fraksi n-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air, hal tersebut menandakan bahwa vitamin C memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat. DPPH bertindak sebagai senyawa radikal yang akan menerima atom hidrogen dari senyawa sampel yang memiliki aktivitas antioksidan. Pendonoran atom hidrogen kepada DPPH mengubah bentuk DPPH yang radikal menjadi bentuk non radikal

Tabel 3. Hasil pengujian aktivitas antioksidan daun sukun (*Artocarpus altilis* (Parkinson) Forberg) kuning nempel menggunakan metode DPPH.

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Rata - rata absorbansi	% Inhibisi	Persamaan Linear	IC ₅₀
N-heksan	40	0,2583	54,39	y = 0,3959x + 39,645 R ² = 0,908	26,16
	30	0,2601	53,79		
	20	0,3022	46,30		
	10	0,3169	43,69		
Etil asetat	40	0,2198	60,96	y = 0,5269x + 40,985 R ² = 0,9658	17,11
	30	0,2328	58,64		
	20	0,2749	51,16		
	10	0,3046	45,88		
Air	40	0,2294	59,24	y = 0,4676x + 40,33 R ² = 0,9804	20,68
	30	0,2617	53,50		
	20	0,277	50,78		
	10	0,312	44,56		
Vitamin C	8	0,2817	61,22	y = 2,095x + 45,285 R ² = 0,9726	2,25
	6	0,2968	59,14		
	4	0,3373	53,57		
	2	0,3697	49,11		

dengan perubahan warna (Handayani, *et al.*, 2014). Semakin memudarnya warna larutan DPPH maka sampel semakin aktif. Perubahan warna dari ungu menjadi lebih muda hingga kuning menunjukkan bahwa sampel memiliki kemampuan menangkap radikal bebas yang potensial yang ditunjukkan dengan penurunan absorbansi larutan uji yang dihitung terhadap larutan blanko. Semakin kecil absorbansi larutan uji yang diperoleh maka semakin kuat sampel meredam DPPH. Dan semakin kecil nilai IC_{50} berarti semakin tinggi aktivitas antioksidan. IC_{50} (*Inhibitor Concentration*) merupakan konsentrasi larutan sampel yang mampu mereduksi aktivitas DPPH sebesar 50% (Molyneux, 2004).

Pemantauan Ekstrak Metanol dan Fraksi Daun Sukun (*Artocarpus altilis* (Parkinson) Forberg) Kuning Nempel

Pada ekstrak metanol dan masing-masing fraksi yang dihasilkan dilakukan pemantauan menggunakan KLT plat silica gel GF₂₅₄, dengan pelarut n-heksan : etil asetat (7:3). Kemudian dianalisis menggunakan pereaksi semprot $AlCl_3$, uap amonia, sitroborat dan DPPH sebagai penampak bercak. Hasil KLT dipantau dibawah sinar UV 366 nm dan sinar UV 254 nm.

Hasil KLT fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, dan ekstrak metanol dengan preaksi semprot $AlCl_3$ menunjukkan adanya bercak noda berfluoresensi kuning bila dilihat dibawah sinar UV 366 nm. Dengan

nilai Rf pada fraksi n-heksan sebesar Rf 0,57, pada fraksi etil asetat dengan nilai Rf 0,62 dan pada ekstrak metanol terdapat 2 bercak noda berwarna kuning dengan nilai Rf sebesar 0,38 dan 0,70. Fluoresensi warna kuning tersebut menunjukkan bahwa adanya 5-hidroksi flavonoid pada sampel (Markham, 1988).

Hasil KLT fraksi n-heksan, fraksi etil asetat dan ekstrak metanol dengan preaksi semprot sitroborat terdapat bercak noda yang berfluoresensi berwarna kuning terang setelah disemprot dengan sitroborat dengan nilai Rf 0,37 pada fraksi n-heksan, 0,42 pada fraksi etil asetat dan pada ekstrak metanol terdapat 2 bercak noda kuning dengan nilai Rf 0,70 dan 0,92. Penampak bercak sitroborat digunakan sebagai pembeda antara flavanol dan flavon (Riasari, 2014).

Hasil KLT fraksi n-heksan, fraksi etil asetat dan ekstrak metanol dengan preaksi uap amonia menunjukkan bercak noda berfluoresensi kuning kehijauan pada fraksi n-heksan yang menghasilkan nilai Rf sebesar 0,37 dan fraksi etil asetat menghasilkan nilai Rf sebesar 0,45. Setelah direaksikan dengan uap amonia hanya terjadi sedikit perubahan warna menjadi lebih terang jika dilihat dibawah sinar UV 366 nm. Menurut Markham (1988), Fluoresensi berwarna kuning pada plat setelah diuapi amonia menunjukkan adanya senyawa golongan fenol atau flavonoid.

Isolasi Senyawa Aktif Antioksidan dengan Kromatografi Kolom

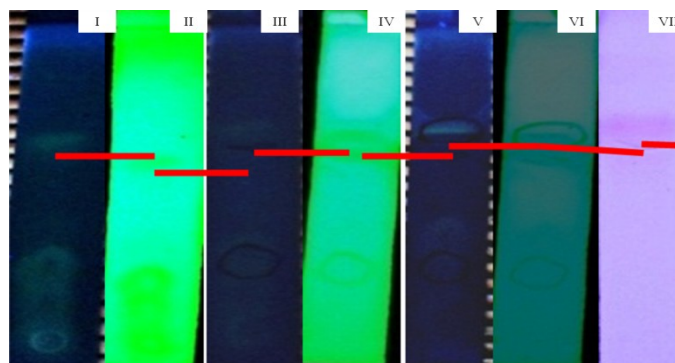
Berdasarkan hasil pengujian aktivitas antioksidan fraksi, maka dipilih fraksi etil asetat untuk dilakukan isolasi. Karena memiliki IC_{50} yang paling kecil dibandingkan dengan fraksi n-heksan dan fraksi air yaitu 17,11. Serta, pada hasil KLT yang menunjukkan adanya senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan dimana bercak yang dihasilkan berwarna kuning dengan latar belakang berwarna ungu. Isolasi dilakukan dengan kromatografi kolom dengan silica gel 60 sebagai fase diam dan pengelusi dengan kepolaran bertingkat dalam berbagai perbandingan, yaitu n-heksan : etil asetat dan etil asetat : metanol. Semua hasil kolom ditampung dalam vial yang telah ditimbang dan diberi label.

Dari hasil kromatografi kolom diperoleh subfraksi sebanyak 386 vial. Kemudian pada subfraksi dilakukan

pemantauan menggunakan KLT. Senyawa yang mempunyai Rf dan warna yang sama digabungkan menjadi satu kelompok. Terdapat 7 subfraksi yaitu subfraksi 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40 dengan nilai Rf 0,50 pada subfraksi 34, 35,36,37,38 dan 0,55 pada subfraksi 39 dan 40. Ketujuh subfraksi tersebut diduga senyawa golongan flavonoid dengan fluoresensi berwarna kuning kehijauan jika dilihat dibawah sinar UV 366. Masing-masing fraksi di KLT menggunakan n-heksan : etil asetat (7:3) dan disemprot menggunakan pereaksi DPPH. Setelah disemprot menggunakan pereaksi DPPH, dipilih subfraksi 39 untuk dipisahkan lebih lanjut karena memberikan perubahan warna kuning dengan latar belakang berwarna ungu selama 30 menit. Hasil KLT dapat dilihat pada gambar 2.

Pemurnian Isolat Dengan Kromatografi Lapis Tipis Preparatif

Pada subfraksi 39 dilakukan pemisahan lebih lanjut menggunakan



Gambar 2. (I) Subfraksi 39 tanpa disemprot DPPH dibawah sinar UV 366 nm (II) Subfraksi 39 tanpa disemprot DPPH dibawah sinar UV 254 nm (III) Subfraksi 39 setelah disemprot DPPH pada 0 menit dibawah sinar UV 366 nm (IV) Subfraksi 39 setelah disemprot DPPH pada 0 menit dibawah sinar UV 254 nm (V) Subfraksi 39 setelah disemprot DPPH dan di inkubasi 30 menit dibawah sinar UV 366 nm (VI) Subfraksi 39 setelah disemprot DPPH dan di inkubasi 30 menit dibawah sinar UV 254 nm, (VII)Subfraksi 39 setelah disemprot DPPH dan di inkubasi 30 menit secara visual.

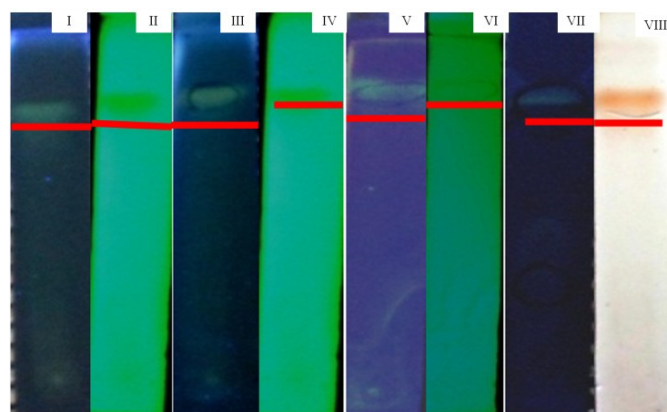
kromatografi lapis tipis preparatif karena masih terdapat 2 bercak noda dengan nilai Rf sebesar 0,22 dan 0,55. Silika gel GF₂₅₄ digunakan sebagai fase diam dan n-heksan : etil asetat (7:3) sebagai fase gerak dan dideteksi dengan menggunakan sinar UV 254 nm dan 366 nm. Hasil kromatografi lapis tipis preparatif diperoleh 2 bercak noda berwarna kuning kehijauan dibawah sinar UV 366 nm.

Kedua bercak tersebut kemudian dipisahkan dan diperoleh isolat 1 dengan Rf sebesar 0,37 dan isolat 2 dengan Rf sebesar 0,62. Pemantauan dilakukan menggunakan kromatografi lapis tipis dengan silika gel GF₂₅₄ digunakan sebagai fase diam dan n-heksan : etil asetat (7:3) sebagai fase gerak dengan penampak bercak uap amonia, AlCl₃, H₂SO₄ dengan pemanasan dan DPPH. Hasil pemantauan KLT dapat dilihat pada gambar 3.

Hasil pemantauan kromatografi lapis tipis isolat 2 menunjukkan bahwa senyawa tersebut adalah golongan

flavonoid karena berfluoresensi warna kuning pada UV 366 nm setelah disemprot dengan penampak bercak AlCl₃ yang menunjukkan adanya 5- hidroksi flavonoid dengan nilai Rf 0,83. Serta memberikan sedikit perubahan warna setelah diberi penampak bercak uap amonia dengan nilai Rf sebesar 0,80 yang menunjukkan adanya senyawa flavonoid golongan flavanon (Markham, 1988). Setelah disemprot dengan pereaksi DPPH isolat 2 menunjukkan adanya aktivitas antioksidan dengan perubahan warna kuning dengan latar belakang berwarna ungu (Molyneux, 2004) dan memberikan bercak noda tunggal setelah diberi penampak bercak H₂SO₄ dengan pemanasan. Pada kromatografi lapis tipis isolat 1 tidak terlihat bercak noda, karena memiliki intensitas yang kecil sehingga tidak terlihat bercak noda sebelum dan setelah disemprot dengan penampak bercak.

Uji Kemurnian Isolat Dengan



Gambar 3. (I) Isolat 2 tanpa semprot dibawah sinar UV 366 nm (II) Isolat 2 tanpa semprot dibawah sinar UV 254 nm (III) Isolat 2 dengan penampak bercak uap amonia dibawah sinar UV 366 nm (IV) Isolat 2 dengan penampak bercak uap amonia dibawah sinar UV 254 nm (V) Isolat 2 dengan penampak bercak AlCl₃ dibawah sinar UV 366 nm (VI) Isolat 2 dengan penampak bercak AlCl₃ dibawah sinar UV 254 nm (VII) Isolat 2 dengan penampak bercak DPPH (VIII) Isolat 2 dengan penampak bercak H₂SO₄ dengan pemanasan.

Kromatografi Lapis Tipis 2 Dimensi

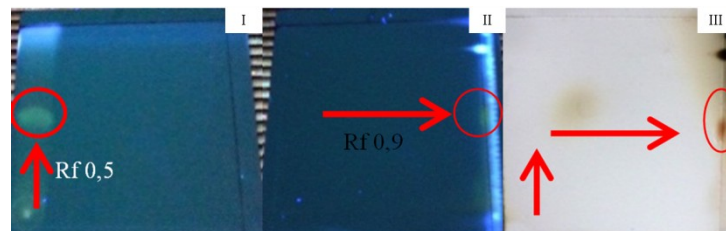
Pada isolat 2 diuji kemurniannya dengan menggunakan KLT 2 dimensi dengan KLT kesatu menggunakan pengembang pertama yaitu n-heksan : etil asetat (7:3) dan pengembang kedua etil asetat : metanol (9:1) serta KLT kedua menggunakan pengembang pertama yaitu n-heksan : etil asetat (7:3) dengan pengembang kedua n-butanol : asam asetat : air (4:5:1) kemudian disemprot H_2SO_4 dengan pemanasan. Hasil KLT 2 dimensi

dapat dilihat pada gambar 4 dan 5.

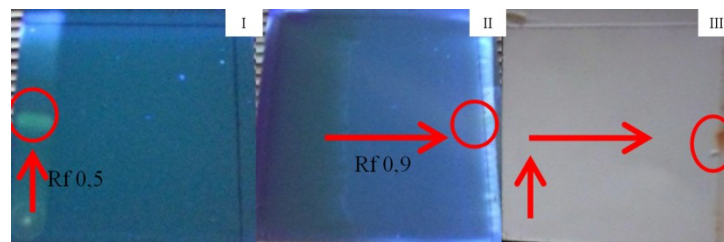
Dari hasil KLT 2 dimensi tersebut menunjukkan bahwa isolat 2 yang diperoleh adalah murni berdasarkan hasil KLT karena menghasilkan bercak noda tunggal setelah disemprot H_2SO_4 dengan pemanasan. Nilai Rf dapat dilihat pada tabel 3.

Identifikasi Isolat Spektrofotometri UV-VIS

Hasil isolat diidentifikasi dengan spektrofotometri UV-Vis. Hasil identifikasi isolat 2 menunjukkan panjang gelombang



Gambar 4. (I) KLT kesatu isolat 2 dengan pengembang pertama n-heksan : etil asetat (7:3) dibawah sinar UV 366 nm (II) KLT isolat 2 dengan pengembang kedua etil asetat : metanol (9:1) dibawah sinar UV 366 nm (III) KLT isolat 2 dua dimensi dengan disemprot H_2SO_4 dengan pemanasan.

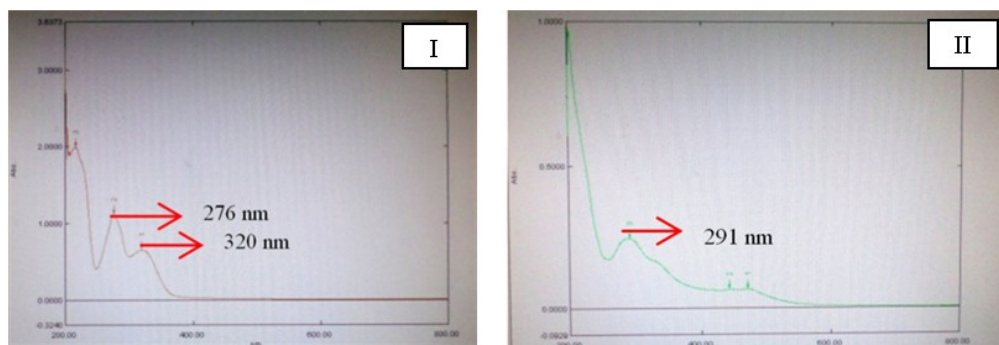


Gambar 5. (I) KLT kedua isolat 2 dengan pengembang pertama n-heksan : etil asetat (7:3) dibawah sinar UV 366 nm (II) KLT isolat 2 dengan pengembang kedua n-butanol : asam asetat : air (4:5:1) dibawah sinar UV 366 nm (III) KLT isolat 2 dua dimensi dengan disemprot H_2SO_4 dengan pemanasan.

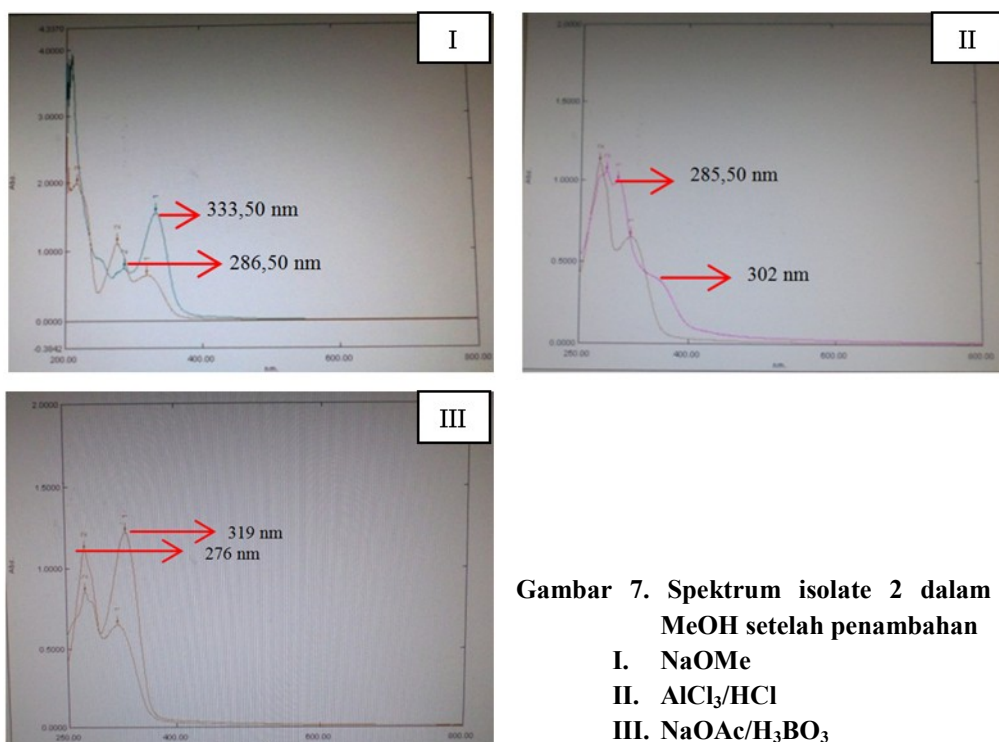
Tabel 3. Nilai Rf KLT dua dimensi isolat 2

Pengembang	Nilai Rf
N – heksan : etil asetat (7:3)	0,50
Etil asetat : metanol (9:1)	0,90
n-butanol : asam asetat : air (4:5:1)	0,90

320 nm pada pita I dan 276 nm pada pita II (gambar 6.I). Dan isolat 1 menunjukkan panjang gelombang pada 291 nm yang diduga merupakan senyawa fenol (gambar 6.II). Data spektrum UV isolat 2 tersebut memiliki ciri khas senyawa flavanon yang mempunyai rentang serapan pita I pada λ_{max} 330 – 350 nm dan pita II pada λ_{max} 275 – 295 nm (Markham, 1988).



Gambar 6. I. Spektrum isolat 2 dalam methanol II. Spektrum isolat 1 dalam metanol



Gambar 7. Spektrum isolate 2 dalam MeOH setelah penambahan
I. NaOMe
II. AlCl₃/HCl
III. NaOAc/H₃BO₃

Isolat 2 diidentifikasi lebih lanjut dengan pereaksi geser menggunakan NaOMe, AlCl₃ / HCl dan NaOAc / H₃BO₃. Setelah penambahan NaOMe terjadi

pergeseran batokromik pada pita II (Gambar 7.I) dan peningkatan intensitas puncak yang merupakan ciri dari flavanon (Markam, 1988). Penambahan AlCl₃ menyebabkan pergeseran batokromik pada pita II (Gambar 7.II) yang menunjukkan adanya OH pada cincin A (6,7 atau 7,8) (Markham, 1988). Penambahan NaOAc/ H₃BO₃ menunjukkan

posisi puncak pada pita II dalam spektrum metanol sama dengan puncak spektrum dengan penambahan NaOAc/H₃BO₃ (Gambar 7.III) serta terjadi penurunan

kekuatan dengan bertambahnya waktu yang menunjukkan adanya 6,7 atau 7,8 OH (Markham, 1988). Pergeseran pita I dan pita II menggunakan ketiga pereaksi geser dapat dilihat pada tabel 4.

menunjukkan adanya gugus CH alifatik pada isolat tersebut. Kemudian serapan pada daerah bilangan gelombang 1739,55 cm^{-1} merupakan serapan yang disebabkan oleh adanya vibrasi ikatan rangkap C=O.

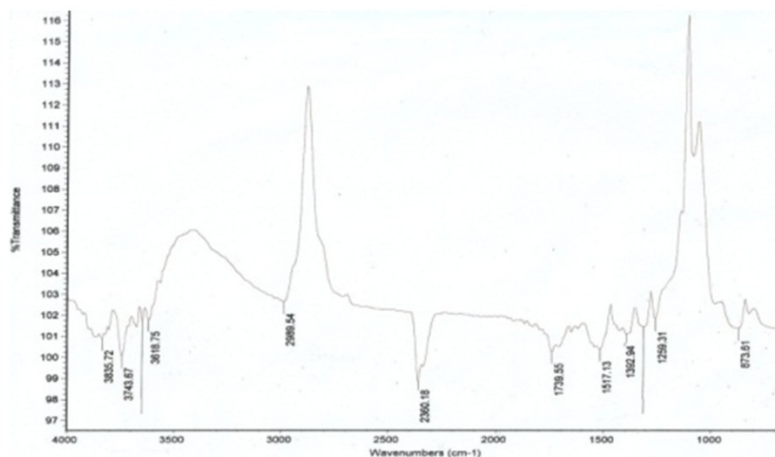
Tabel 4. Pergeseran pita I dan pita II isolat 2

Pereaksi Geser	Pita I (nm)	Pita II (nm)	Pergeseran	
			Pita I	Pita II
MeOH	320,00	276,00	-	-
MeOH + NaOMe 0 menit	333,50	286,00	+ 13,50	+ 10,00
MeOH + NaOMe 5 menit	333,50	286,50	+ 13,50	+ 10,50
MeOH + AlCl ₃	303,00	286,00	-17,00	+ 10,00
MeOH + AlCl ₃ + HCl	302,00	285,50	- 18,00	+ 9,50
MeOH + NaOAc 0 menit	332,50	276,00	+ 12,50	-
MeOH + NaOAc 5 menit	332,00	276,00	+ 12,00	-
MeOH + NaOAc + H ₃ BO ₃	319,00	276,00	-1,00	-

Identifikasi dengan Spektrofotometri FTIR

Hasil identifikasi isolat 2 dengan menggunakan spektrofotometri FTIR menunjukkan adanya serapan tajam pada bilangan gelombang 3618,75 cm^{-1} yang menunjukkan adanya gugus OH (Williams, *et al.*, 2008). Serapan pada bilangan gelombang 2989,54 cm^{-1} dan 1392,94 cm^{-1}

Serapan pada bilangan gelombang 1517,13 cm^{-1} dan 873,61 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus C=C aromatik. Dan adanya gugus C-O pada bilangan gelombang 1259,31 cm^{-1} (Derrick, *et al.*, 1999). Hal tersebut membuktikan bahwa isolat 2 merupakan senyawa fenol golongan flavonoid yaitu flavanon. Spektrum dapat dilihat pada gambar 8 dan analisisnya pada tabel 5.



Gambar 8. Spektrum FTIR isolat 2

Tabel 5. Analisis spektrum FTIR isolat 2

No.	Bilangan Gelombang		Gugus Fungsi	Pustaka
	Spektra	Rentang		
1.	3618,75	3650 – 3590	OH	Williams, <i>et al.</i> , 2008
2.	2989,54	3000 – 2800	CH alifatik	Derrick, <i>et al.</i> , 1999
3.	1392,94	1450-1380	CH alifatik	Derrick, <i>et al.</i> , 1999
4.	1739,55	1870 – 1640	C = O	Derrick, <i>et al.</i> , 1999
5.	1517,13	1600 – 1500	C = C aromatik	Derrick, <i>et al.</i> , 1999
6.	873,61	1000 – 650	C = C aromatik	Derrick, <i>et al.</i> , 1999
7.	1259,31	1260 – 1000	C - O	Derrick, <i>et al.</i> , 1999

SIMPULAN

Hasil pengujian aktivitas antioksidan menunjukkan bahwa fraksi etil asetat daun sukun (*Artocarpus altilis* (Parkinson) Forberg) kuning nempel memiliki aktivitas antioksidan paling baik dengan nilai IC_{50} sebesar 17,11 dibandingkan dengan IC_{50} fraksi n-heksan sebesar 26,16 dan IC_{50} fraksi air sebesar 20,68.

Berdasarkan hasil analisis data kromatografi lapis tipis dengan penampak bercak dan identifikasi isolat menggunakan spektrofotometri UV-Vis dengan pereaksi geser dan spektrofotometri FTIR menunjukkan bahwa isolat 2 merupakan senyawa fenol golongan flavonoid yaitu flavanon yang memiliki aktivitas antioksidan. Panjang gelombang isolat 2 pada pita I sebesar 320 nm dan pita 2 sebesar 276 nm yang merupakan ciri khas senyawa flavanon. Hasil FTIR yang menunjukkan adanya gugus OH, gugus CH alifatik, ikatan rangkap C=O, gugus C=C aromatik dan gugus C-O pada isolat 2. Dan hasil identifikasi isolat 1 berdasarkan spektrofotometri UV-VIS menunjukkan panjang gelombang sebesar 291 nm yang diduga merupakan senyawa golongan fenol.

DAFTAR PUSTAKA

- Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., Berset, C. 1995. "Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity." *Food science and technology*, 28 (1), 25-30.
- Hano, Y., Inami R., Nomura T. 1994. "A Novel Flavone, Artonin V from the Root Bark of *Artocarpus altilis*, *J.Chem.Research* (5), 9-10.
- Dalimartha, S. 2003. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia Jilid 3.Cetakan I*. Puspa Swara. Jakarta.
- Derrick, Michele.R., Stulik, Dusan., Landry, James.M. 1999. *Infrared Spectroscopy in Conservation Science Sciecetific Tools for Conservation*. The Getty Conservation Institute. Los Angeles.
- Kan, W. S. 1978. *Pharmaceutical Botany*. Taipei : National Research Institute of Chinese Medicine.
- Komariah, Nurul. 2013. "Isolasi Senyawa Aktif Antioksidan Dari Ekstrak Etil Asetat Herba Kemangi (*Ocimum americanum* L.)." *Skripsi*. Fakultas Kedokteran Dan Ilmu Kesehatan

- Studi Farmasi UIN Syarif Hidayatullah Jakarta.
- Depkes RI. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI. Hal 1, 10-11.
- Heyne. 1987. *Tumbuhan berguna Indonesia, Jilid III*. Cetakan ke 1, Badan Litbang Kehutanan Jakarta. Departemen Kehutanan. Gatot Subroto. Jakarta. p. 1374-1380.
- Mabry, T.J., Markham, K.R. and Thomas, M.B. 1970. *The Systematic Identification of Flavonoid*. Springe-Verlag : New York. p.1-343.
- Markham, K.R. 1988. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. Penerjemah: Kosasih Padmawinata. Bandung: Penerbit ITB.
- Molyneux, P. 2004. The use of the stable 6.free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) forestimating antioxidant activity. *Songklanakarın Journal of Science Technology*, 26(2) : 211–216.
- Mu'nisa, A, Muflihunna.A , Faridah A.A. 2011. "Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Sukun Terhadap Kadar Glukosa Darah dan Malondialdehid (MDA) Pada Mencit (*Mus musculus*)."
Skripsi. FMIPA.IPB. Bogor.
- Riasari, Hesti. 2014. "Aktivitas Antioksidan Dari Variasi Usia Hijau Segar, Hijau Fermentasi, Kuning Nempel, Kuning Jatuh Dan Jatuh Kering. Daun Sukun (*Artocarpus altilis* (Parkinson) Fosberg)."
Seminar Nasional SIMNAS KBA2014 UPI. Oral Persentasi.
- Sarastani, Dewi; Suwarna T. Soekarto; Tien R. Muchtadi; Dedi Fardiaz dan Anton Apriyanto. 2002. "Aktivitas Antioksidan Ekstrak dan Fraksi Ekstrak Biji Atung."
Jurnal Teknologi dan Industri Pangan. 13:149-156.
- Seftyanisa, Ilma. 2013. "Isolasi Suatu Senyawa Antioksidan Dari Ekstrak Etil Asetat Daun Sukun (*Artocarpus communis* Fors)."
Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi.
- Ardianti, A., Guntarti, A., dan Zainab. 2014. "Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Eter Hasil Hidrolisis Infusa Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) dengan Metode DPPH (1,1-DiPhenil-2-PicrylHydrazyl)."
Pharmaciana Vol 4(1) : 1-8.
- Handayani, Virsa., Ahmad, A.R., dan Sudir, Miswati. 2014. "Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Bunga dan Daun Patikala (*Etlingera elatior* (Jack) R.M.Sm) Menggunakan Metode DPPH."
Pharm Sci Res, Vol 1(2) : 88-93.
- Williams, B. J., Borkowski, K. J., Reynolds, S. P., et al. 2008.

“Ejecta, Dust and Synchrotron
Radiation in B0540-69.3: A More
Crab- Like Remnant than the Crab.
“ *Astrophys.J.* p. 687.1054.