

ANTIOXIDANT ACTIVITY DETERMINATION *Garcinia dulcis* (Roxb.) Kurz, *Blumea mollis* (D. Don) Merr., *Siegesbeckia orientalis* L., AND *Salvia riparia* H.B.K WHICH COLLECTED FROM TAMAN NASIONAL GUNUNG MERAPI USING DPPH (2,2-diphenyl-1-PIKRIL -HIDRAZIL) AND THIN LAYER CHROMATOGRAPHY

PENENTUAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN *Garcinia dulcis* (Roxb.) Kurz, *Blumea mollis* (D. Don) Merr., *Siegesbeckia orientalis* L., DAN *Salvia riparia* H.B.K YANG DIKOLEKSI DARI TAMAN NASIONAL GUNUNG MERAPI DENGAN METODE DPPH(2,2-DIFENIL-1-PIKRIL-HIDRAZIL) SERTA PROFIL KROMATOGRAFI LAPIS TIPISNYA

Djoko Santosa*, Perdana Priya Haresmita

Faculty of Pharmacy, Universitas Gadjah Mada, Sekip Utara, 55281 Yogyakarta, Indonesia

ABSTRACT

*This study was conducted to determine antioxidant activity of methanolic extract and wasbenzen extract of four plants species: *Garcinia dulcis* (Roxb.) Kurz, *Blumea mollis* (D. Don) Merr., *Siegesbeckia orientalis* L. and *Salvia riparia* H.B.K. These four plants species were collected from TNGM, based on DPPH free radicals capturing and the profile of its thin layer chromatography. Sample was extracted by gradual maceration process with wasbenzen and methanol. Antioxidant activity was analyzed by DPPH and qualitative analysis was done by thin layer chromatography (TLC) to determine the highest antioxidant activity. Antioxidant activity was showed by IC_{50} values and qualitative analysis of the data is presented in the chromatogram. The results shows that the highest antioxidant activity was the extract of *Garcinia dulcis* (Roxb.) Kurz for both methanol and wasbenzene extract with IC_{50} value $38.613\mu\text{g/mL}$ and $139.381\mu\text{g/mL}$ respectively. Qualitative analysis of methanolic extract of *Garcinia dulcis* (Roxb.) Kurz by thin layer chromatography (TLC) showed that the extract contain of phenols and flavonoids.*

Keywords: Mount Merapi National Park, antioxidant, DPPH, flavonoids, phenols.

ABSTRAK

*Penelitian ini bertujuan untuk menentukan aktivitas antioksidan ekstrak wasbenzen dan metanolik empat jenis tumbuhan, yaitu *Garcinia dulcis* (Roxb.)Kurz, *Blumea mollis* (D. Don) Merr., *Siegesbeckia orientalis* L., dan *Salvia riparia* H.B.K hasil koleksi dari TNGM berdasarkan metode penangkapan radikal bebas dengan DPPH dan mengetahui profil kromatografi lapis tipisnya. Ekstrak dibuat dengan proses maserasi bertingkat dengan penyari wasbenzen dan metanol, uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH serta analisis kualitatif dengan kromatografi lapis tipis (KLT) untuk tumbuhan dengan aktivitas antioksidan tertinggi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa diantara keempat ekstrak metanolik, ekstrak *Garcinia dulcis* (Roxb.) Kurz mempunyai aktivitas antioksidan tertinggi dengan nilai IC_{50} $38,613\mu\text{g/mL}$. Untuk ekstrak wasbenzen, ekstrak *Garcinia dulcis* (Roxb.) Kurz juga mempunyai aktivitas tertinggi dengan nilai IC_{50} $139,381\mu\text{g/mL}$. Analisis kualitatif ekstrak metanolik *Garcinia dulcis* (Roxb.) Kurz dengan kromatografi lapis tipis (KLT) menunjukkan bahwa ekstrak metanolik *Garcinia dulcis* (Roxb.) Kurz mengandung senyawa golongan fenol dan flavonoid.*

Katakunci: Taman Nasional Gunung Merapi, antioksidan, DPPH, flavonoid, fenol.

PENDAHULUAN

Taman Nasional Gunung Merapi (TNGM) meliputi sebagian wilayah Propinsi Daerah Istimewa Yogyakarta dan Propinsi Jawa Tengah.

Corresponding author : Djoko Santosa
E-mail: santosadjoko5346@yahoo.co.id

Keanekaragaman tumbuhan yang dimiliki kawasan TNGM menyebabkan kawasan tersebut juga memiliki keanekaragaman kandungan senyawa. Senyawa fenol dimiliki hampir semua suku, terutama suku Lamiaceae dan Asteraceae. Turunan flavon dan flavanon merupakan senyawa yang banyak terdapat dalam suku Asteraceae. Segi

penting dari penyebaran flavonoid dan senyawa fenolik dalam tumbuhan adalah kecenderungan kuat bahwa tumbuhan-tumbuhan yang secara taksonomi berkaitan, misalnya dari marga atau suku yang sama, akan menghasilkan flavonoid dan senyawa fenolik serupa (Markham, 1988).

Jenis-jenis tumbuhan yang terdapat di TNGM antara lain *Siegesbeckia orientalis* L., *Blumea mollis* (D.Don)Merr., *Artemisia annua* (Asteraceae), *Salvia riparia* H.B.K (Lamiaceae), *Polygala paniculata* (Polygalaceae), *Foeniculum vulgare* (Apiaceae) dan *Garcinia dulcis* (Roxb.)Kurz (Clusiaceae). Sebagian tumbuhan tersebut telah digunakan untuk pengobatan. Berdasarkan studi pustaka *Garcinia dulcis* (Roxb.) Kurz, *Blumea mollis* (D.Don)Merr., *Siegesbeckia orientalis* L. dan *Salviari paria* H.B.K mempunyai kandungan fenolik dan flavonoid (Hutapea dan Djumidi, 2001). Menurut Sukamat dan Ersam (2006), ekstrak etil asetat kayu batang *Garcinia dulcis* (Roxb.) Kurz mempunyai aktivitas antioksidan dengan nilai EC_{50} 3,7ppm. Ekstrak etanol *Salvia officinalis* dan *Salvia hypoleuca*, jenis lain dari suku Lamiaceae, memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} 30,67 $\mu\text{g}/\text{mL}$ dan 36,81 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (Nickavar et al., 2007). *Blumea balsamifera* yang termasuk suku Asteraceae mengandung flavonoid blumeatin (5,3',5'-trihidroksi-7-metoksi-dihidroflavon) dan turunan kuersetin (Alonzo,1999). Minyak atsiri *B. balsamifera* dilaporkan mempunyai aktivitas antioksidan (Jiang et al., 2014).

Radikal bebas terbentuk jika molekul terpecah menjadi electron tidak berpasangan. Proses ini disebut oksidasi. Radikal bebas ini jika berikatan dengan senyawa pengoksidasi dari alam seperti polusi, dapat menyebabkan sel tubuh hancur melalui stress oksidatif dan secara perlahan menjadi penyebab dalam proses penuaan dan timbulnya penyakit kronis (Milbury dan Richer, 2008). Senyawa yang dapat menghambat reaksi radikal bebas adalah antioksidan.

Flavonoid diketahui bertindak sebagai antioksidan dengan jalan menangkap anion superoksida dan hidroksi radikal (Maslarova, 2001). Golongan senyawa fenolik juga diketahui memiliki aktivitas antioksidan yang potensial secara *in vitro*. Senyawa fenolik telah terbukti mempunyai aktivitas antioksidan melalui uji dengan radikal bebas sintetik maupun radikal bebas fisiologi seperti gugus peroksil dan hidroksil radikal (Proteggente et al., 2003).

Penelitian ini bertujuan untuk menentukan aktivitas antioksidan ekstrak wasbenzen dan metanolik empat jenis tumbuhan, yaitu *Garcinia dulcis* (Roxb.)Kurz, *Blumea mollis* (D.Don)

Merr., *Siegesbeckia orientalis* L., dan *Salvia riparia* H.B.K hasil koleksi dari TNGM berdasarkan metode penangkapan radikal bebas dengan DPPH dan mengetahui profil kromatografi lapis tipisnya.

METODOLOGI

Alat dan Bahan

Bahan yang digunakan adalah tumbuhan hasil koleksi dari TNGM, kloroform, etil asetat, metanol p.a, wasbenzen, DPPH, kuersetin, penampak bercak Serium sulfat, FeCl_3 , dan sitroborat. Alat yang digunakan adalah seperangkat alat maserasi, spektrofotometri UV-Vis (Spectronic® 20 Genesys™), lempeng silica gel 60 F₂₅₄, lampu UV, oven.

Jalannya Penelitian

Pembuatan ekstrak

Sampel dikeringkan dengan lemari pengering selama dua hari hingga benar-benar kering lalu dihaluskan hingga ukuran yang telah ditentukan. Serbuk dimaserasi selama 24 jam lalu diekstraksi bertingkat dengan wazbenzen kemudian penyari methanol dengan volume lima kali berat serbuk kemudian sisa serbuk hasil maserasi dengan wasbenzen dikeringkan kemudian dimaserasi kembali dengan metanol.

Penentuan aktivitas antioksidan

Sebanyak 1,0mL DPPH 0,4mM dimasukan ke dalam tabung reaksi, ditambah bahan uji masing-masing 1,0mL yaitu ekstrak metanolik dan ekstrak wasbenzen pada berbagai konsentrasi. Kontrol positif yang digunakan adalah larutan kuersetin dengan konsentrasi 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Selanjutnya ditambah pelarut hingga volume 5,0mL, ditunggu hingga *operating time* tercapai. Setelah itu, absorbansi larutan dibaca pada panjang gelombang 516nm. Dilakukan pula pembacaan absorbansi larutan kontrol, yakni tanpa penambahan larutan uji atau kuersetin.

Analisis kualitatif dengan KLT

Sampel yang memiliki aktivitas antioksidan yang paling efektif dianalisis menggunakan Kromatografi Lapis Tipis. Larutan stok ekstrak ditotolkan di atas lempeng silika gel 60 F₂₅₄, kemudian dielusi menggunakan fase gerak etil asetat (100%) dan kombinasi etil asetat-kloroform (3:2). Bercak kemudian diamati pada sinar tampak, UV₂₅₄, dan UV₃₆₆. Uji pendahuluan dilakukan dengan menyemprot lempeng KLT dengan penampak bercak serium sulfat untuk mendeteksi senyawa organik. Penampak bercak FeCl_3 digunakan untuk mendeteksi senyawa

golongan fenol dan sitroborat digunakan untuk mendeteksi senyawa flavonoid

Analisis data

Hasil absorbansi senyawa uji dengan absorbansi kontrol positif dianalisis secara deskriptif. Data kromatografi berupa *hRf* dan penampakan bercak sebelum dan sesudah ditambah penampak bercak, diidentifikasi dengan sinar tampak maupun dengan sinar UV₂₅₄ dan UV₃₆₆ untuk menentukan golongan senyawa dalam tumbuhan

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penentuan Aktivitas Antioksidan dengan Metode Penangkapan Radikal DPPH

Metode DPPH dipilih karena sederhana, mudah, cepat, peka, dan hanya memerlukan sedikit sampel. Molekul DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) merupakan radikal sintetik yang larut dalam pelarut polar seperti metanol dan etanol (Rohman dan Riyanto, 2005). Ekstrak metanolik merupakan ekstrak dengan kepolaran tinggi. Untuk pengujian aktivitas antioksidan, ekstrak metanolik dilarutkan dalam metanol sesuai dengan kelarutan DPPH. Ekstrak wasbenzen dengan kepolaran relatif rendah akan sukar larut jika dilarutkan langsung dalam metanol. Oleh karena itu, ekstrak wasbenzen dilarutkan dalam campuran pelarut kloroform-metanol (1:1) agar dapat terlarut sempurna.

Penentuan panjang gelombang maksimum dan penentuan *operating time* dilakukan sebelum uji aktivitas antioksidan. Penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan untuk meminimalisasi kesalahan saat pembacaan absorbansi. Panjang gelombang maksimum yang didapat adalah 516nm. *Operating time* diperlukan untuk memberi waktu senyawa penangkap radikal bereaksi terhadap DPPH secara sempurna. Pembacaan absorbansi pada *operating time* bertujuan agar pembacaan tetap. *Operating time* yang dihasilkan adalah 60 menit untuk ekstrak wasbenzen dan 30 menit untuk ekstrak metanolik.

Aktivitas antioksidan ditentukan dengan nilai IC₅₀ senyawa antioksidan. Nilai IC₅₀ adalah kemampuan senyawa antioksidan menangkap 50% radikal bebas DPPH selama *operating time*. Nilai IC₅₀ diperoleh dari *plotting* terhadap persamaan regresi linear dengan (x) sebagai konsentrasi sampel dan (y) adalah persen aktivitas antioksidan. Semakin kecil nilai IC₅₀, semakin poten aktivitas antioksidan senyawa tersebut.

Hasil penelitian aktivitas antioksidan daun *Garcinia dulcis* (Roxb.) Kurz menunjukkan nilai

IC₅₀ sebesar 139,381µg/mL untuk ekstrak wasbenzen dan 38,613µg/mL untuk ekstrak metanolik. Data tersebut menunjukkan bahwa untuk menangkap radikal DPPH sejumlah 50% diperlukan ekstrak wasbenzen dengan kadar 139,381µg/mL. Untuk ekstrak metanolik diperlukan kadar sebesar 38,613µg/mL.

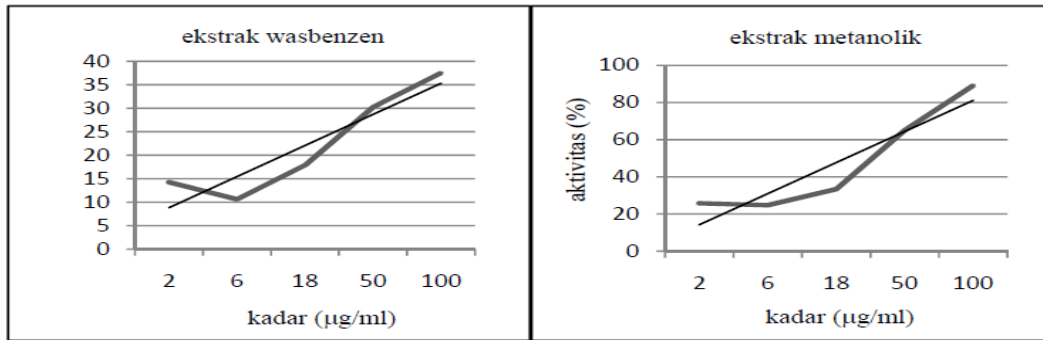
Hasil uji aktivitas antioksidan *Blumea mollis* (D. Don) Merr. menunjukkan nilai IC₅₀ sebesar 140,299µg/mL untuk ekstrak wasbenzen dan 299,367µg/mL untuk ekstrak metanolik. Data tersebut menunjukkan bahwa untuk menangkap radikal DPPH sejumlah 50% diperlukan ekstrak wasbenzen dengan kadar 140,299µg/mL. Untuk ekstrak metanolik diperlukan kadar sebesar 299,367µg/mL.

Data uji aktivitas antioksidan *Siegesbeckia orientalis* L. menunjukkan nilai IC₅₀ sebesar 448,221µg/mL untuk ekstrak wasbenzen dan 108,492µg/mL untuk ekstrak metanolik. Data tersebut menunjukkan bahwa untuk menangkap radikal DPPH sejumlah 50% diperlukan ekstrak wasbenzen dengan kadar 448,221µg/mL. Untuk ekstrak metanolik diperlukan kadar sebesar 108,492µg/mL.

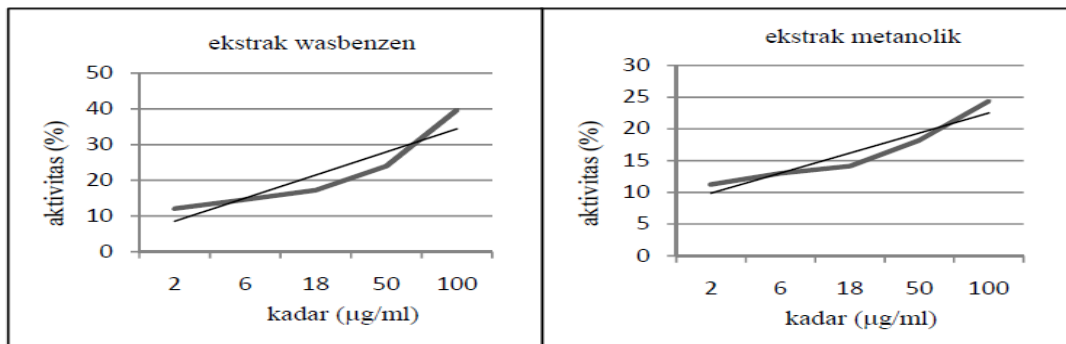
Data uji aktivitas antioksidan pada *Salvia riparia* H.B.K menunjukkan nilai IC₅₀ sebesar 261,810µg/mL untuk ekstrak wasbenzen dan 370,250µg/mL untuk ekstrak metanolik. Data tersebut menunjukkan bahwa untuk menangkap radikal DPPH sejumlah 50% diperlukan ekstrak wasbenzen dengan kadar 261,810µg/mL dan untuk ekstrak metanolik diperlukan kadar sebesar 370,250µg/mL.

Ekstrak *Garcinia dulcis* (Roxb.) Kurz mempunyai aktivitas paling besar diantara keempat ekstrak yang diuji baik untuk ekstrak wasbenzen maupun ekstrak metanolik. Aktivitas terkecil untuk ekstrak wasbenzen dimiliki *Siegesbeckia orientalis* L. dan untuk ekstrak metanolik, aktivitas terkecil dimiliki *Salviaria paria* H.B.K. Secara umum, aktivitas antioksidan terbesar dimiliki ekstrak metanolik *Garcinia dulcis* (Roxb.) Kurz dan aktivitas antioksidan terkecil dimiliki ekstrak wasbenzen *Siegesbeckia orientalis* L. dengan daya penangkapan radikal DPPH hampir dua belas kali lebih lemah.

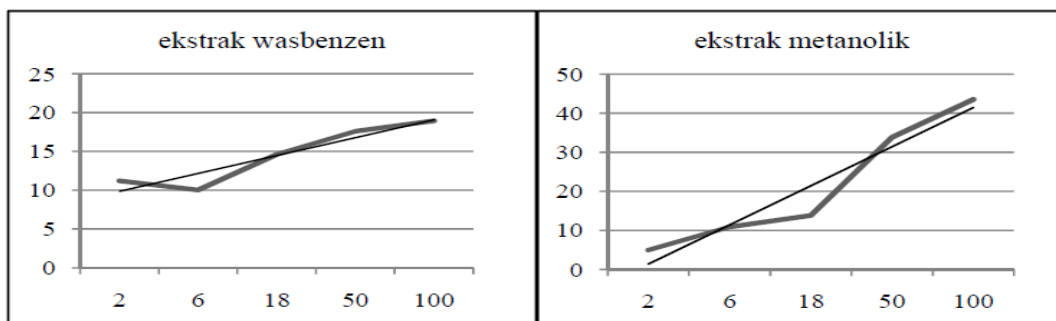
Ekstrak metanolik *a dulcis* (Roxb.) Kurz mempunyai aktivitas antioksidan kuat karena mempunyai nilai IC₅₀ yang kecil. Hal ini menunjukkan bahwa *Garcinia dulcis* (Roxb.) Kurz kemungkinan mempunyai kandungan senyawa fenolik, seperti flavonoid, asam fenolat dan diterpen fenolik. Aktivitas antioksidan senyawa fenolik bertumpu pada kemampuan reduksi-oksidasi yang dimilikinya sehingga mampu menyerap dan menetralkan radikal bebas,



Gambar 1. Kurva regresi linear antara kadar ekstrak wasbenzen dan kadar ekstrak metanolik *Garcinia dulcis* (Roxb.) Kurz dengan rata-rata aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH.



Gambar 2. Kurva regresi linear antara kadar ekstrak wasbenzen dan kadar ekstrak metanolik *Blumea mollis* (D.Don) Merr. dengan rata-rata aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH.



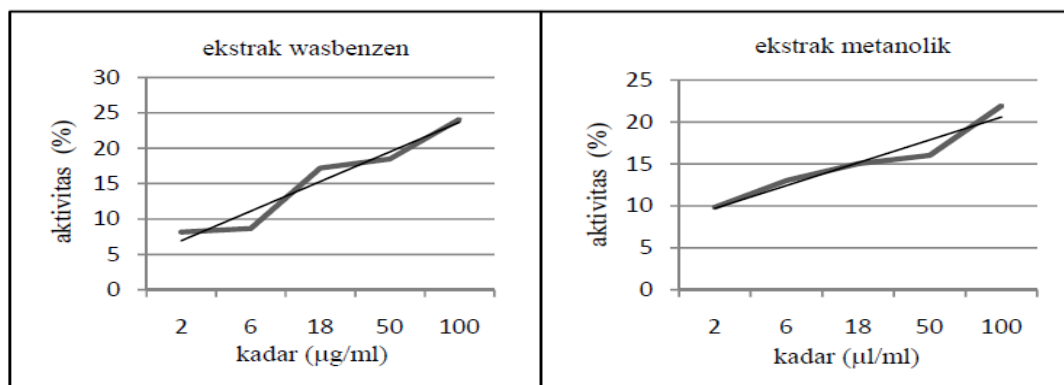
Gambar 3. Kurva regresi linear antara kadar ekstrak wasbenzen dan kadar ekstrak metanolik *Siegesbeckia orientalis* L. dengan rata-rata aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH.

mengikat oksigen singlet dan triplet, maupun mendekomposisi peroksida (Javanmardi *et al.*, 2003).

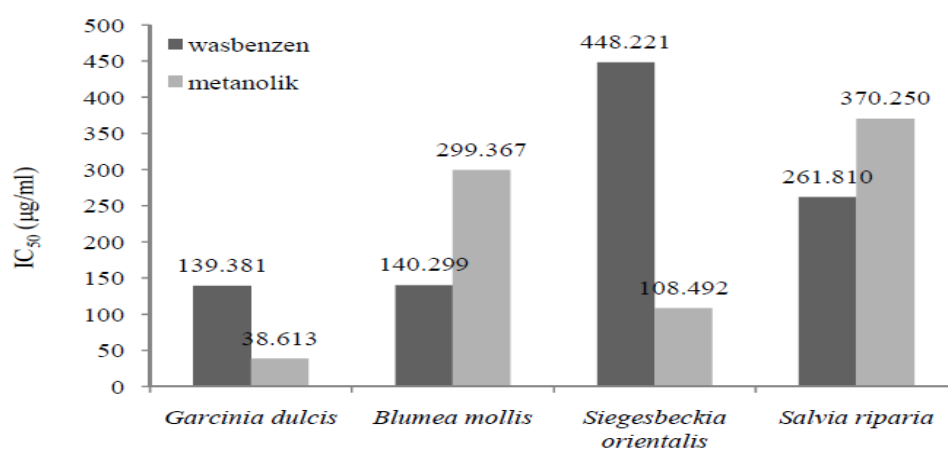
Garcinia dulcis (Roxb.) Kurz dilaporkan mempunyai senyawa fenol termasuk flavonoid yang dikenal sebagai senyawa antioksidan potensial, sehingga dilakukan penelitian kandungan senyawa yang bertanggungjawab terhadap aktivitas antioksidannya melalui kromatografi lapis tipis.

Analisis Kualitatif dengan Metode KLT

Digunakan penampak bercak FeCl₃ untuk mendeteksi senyawa fenolik sedangkan senyawa flavonoid dideteksi dengan penampak bercak sitroborat. Penampak bercak FeCl₃ akan bereaksi terhadap gugus hidroksi pada senyawa fenol. Penampak bercak sitroborat akan bereaksi terhadap gugus orto-dihidroksi pada senyawa flavonoid. Parameter yang digunakan untuk mendeskripsikan migrasi dalam KLT adalah nilai R_f.



Gambar 4. Kurva regresi linear antara kadar ekstrak wasbenzen dan akadar ekstrak metanolik *Salvia riparia* H.B.K dengan rata-rata aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH.



Gambar 5. Grafik perbandingan nilai IC₅₀ aktivitas antioksidan masing-masing ekstrak

Skrining awal dilakukan dengan mengelusi ekstrak metanolik *Garcinia dulcis* (Roxb.) Kurz menggunakan fase gerak etil asetat (100%) dan campuran etil asetat-kloroform (3:2). Fase diam yang digunakan adalah silica gel 60 F254. Hal ini dilakukan untuk melihat hasil pemisahan masing-masing fase gerak. Dengan pemisahan yang baik, analisis akan lebih mudah dilakukan. Penampak bercak serum sulfat digunakan untuk memperjelas hasil pemisahan. Serum sulfat merupakan penampak bercak untuk senyawa organik khususnya turunan terpen.

Elusi awal menggunakan etil asetat (100%) karena etil asetat merupakan fase gerak yang mempunyai sifat relatif kurang polar. Dengan fase gerak relatif kurang polar, senyawa non polar mudah dideteksi dan senyawa polar masih dapat terelusi. Senyawa polar akan mempunyai *hRf* kecil dan senyawa non-polar akan menghasilkan *hRf* besar. Hasil kromatogram dari ekstrak metanolik *Garcinia dulcis* (Roxb.) Kurz dengan fase gerak etil asetat (100%), pemisahan yang dihasilkan cukup baik pada sinar tampak dan sinar UV254. Pada

kromatogram sinar tampak dan sinar UV254, terlihat empat bercak dengan *hRf* 26, 78, 85 dan 94. Deteksi dengan sinar UV366 dan penampak bercak serum sulfat menunjukkan masih ada beberapa bercak yang belum memisah secara sempurna dan cenderung mempunyai *hRf* besar. Bercak yang mempunyai *hRf* besar merupakan senyawa-senyawa dengan kepolaran relative rendah. Dari kromatogram sinar UV366, diperoleh lima bercak dengan *hRf* 26, 68, 78, 85 dan 94. Kromatogram yang disemprot penampak bercak serum sulfat menghasilkan tujuh bercak dengan *hRf* 21, 26, 60, 68, 78, 85 dan 94. Beberapa bercak yang terlihat dengan penampak bercak serum sulfat masih belum terpisah secara sempurna sehingga perlu dilakukan elusi menggunakan fase gerak dengan kepolaran yang berbeda.

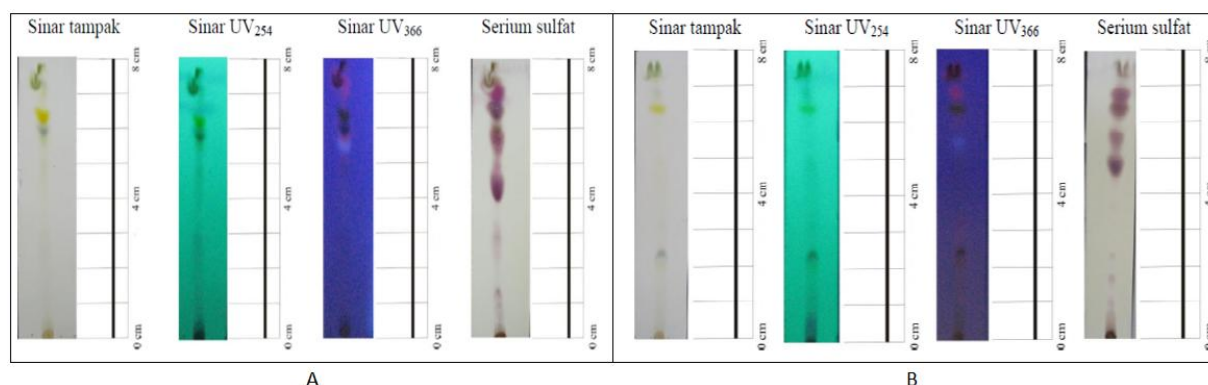
Elusi dilanjutkan menggunakan fase gerak yang kurang polar dibandingkan etil asetat yakni campuran etil asetat-kloroform (3:2). Elusi lanjutan ini bertujuan agar pemisahan lebih baik dan harga *hRf* lebih kecil sehingga deteksi lebih mudah dilakukan.

Tabel I. Data aktivitas antioksidan ekstrak wasbenzen

Sampel	Konsentrasi (µg/mL)	Rata-rata Daya Antioksidan (%)	SD	IC ₅₀ (µg/mL)
<i>Garcinia dulcis</i> (Roxb.) Kurz	2	14,233	4,465	139,381
	6	10,593	0,187	
	18	17,873	0,496	
	50	30,225	2,604	
	100	37,505	1,323	
<i>Blumea mollis</i> (D.Don) Merr.	2	12,065	3,757	140,299
	6	14,601	1,327	
	18	17,219	3,200	
	50	23,967	0,862	
<i>Siegesbeckia orientalis</i> L.	100	39,755	0,368	448,221
	2	11,207	0,789	
	6	10,020	2,319	
	18	14,601	1,533	
<i>Salvia riparia</i> H.B.K	50	17,587	2,032	261,810
	100	18,937	0,375	
	2	8,139	3,527	
	6	8,630	2,368	
Kontrol Kuersetin	18	17,219	2,485	448,221
	50	18,487	4,384	
	100	24,131	2,554	
	20	89,325	0,649	
Kontrol DPPH		10,068		

Tabel 2. Data aktivitas antioksidan ekstrak metanolik

Sampel	Konsentrasi (µg/mL)	Rata-rata Daya Antioksidan (%)	SD	IC ₅₀ (µg/mL)
<i>Garcinia dulcis</i> (Roxb.) Kurz	2	25,765	0,786	38,613
	6	24,758	1,345	
	18	33,454	3,062	
	50	62,158	0,890	
	100	89,211	0,804	
<i>Blumea mollis</i> (D.Don) Merr.	2	11,232	4,115	299,367
	6	13,003	1,714	
	18	14,130	1,053	
	50	18,196	2,969	
<i>Siegesbeckia orientalis</i> L.	100	24,396	0,845	108,492
	2	4,952	3,367	
	6	10,910	2,175	
	18	13,849	2,231	
<i>Salvia riparia</i> H.B.K	50	33,857	3,489	370,250
	100	43,559	3,520	
	2	9,823	2,650	
	6	13,003	0,804	
Kontrol Kuersetin	18	15,016	1,013	370,250
	50	16,023	0,488	
	100	21,023	2,241	
	20	93,047	0,071	
Kontrol DPPH		10,068		



Gambar 6. Kromatogram ekstrak metanolik *Garcinia dulcis* (Roxb.) Kurz, (a) fase gerak etil asetat (100%), (b) fase gerak etil asetat-kloroform (3:2)

Kromatogram ekstrak metanolik *Garcinia dulcis* (Roxb.) Kurz yang dielusi dengan fase gerak campuran etil asetat-kloroform (3:2) menunjukkan hasil pada sinar tampak dan sinar UV254 menghasilkan tiga bercak dengan *hRf* 75, 78, dan 94. Bercak yang dihasilkan dari sinar UV366 berjumlah empat dengan masing-masing *hRf* adalah 69, 75, 78, dan 94. Untuk kromatogram dengan penampak bercak serium sulfat, bercak yang dihasilkan lebih banyak yakni berjumlah 6 bercak. Keenam bercak tersebut mempunyai *hRf* 38, 53, 73, 81, 88, dan 94. Secara umum, pemisahan yang dihasilkan fase gerak etilasetat-kloroform (3:2) lebih baik dibandingkan dengan pemisahan dari etil asetat (100%). Hal ini terlihat dari *hRf* yang bernilai lebih kecil dari *hRf* kromatogram fase gerak etil asetat.

Analisis kualitatif kandungan senyawa flavonoid maupun fenol diawali dengan pengamatan dibawah sinar lampu UV, baik UV254 maupun UV366. Senyawa fenol dideteksi dengan penampak bercak FeCl_3 . Kromatogram sebelum disemprot penampak bercak FeCl_3 menunjukkan bahwa terdapat 3 bercak yang terlihat pada pengamatan sinar tampak dengan nilai *hRf* 15, 60, dan 85. Warna ketiga bercak tersebut adalah hijau muda, kuning, dan hijau kekuningan. Kromatogram setelah disemprot penampak bercak FeCl_3 menghasilkan empat bercak dengan masing-masing nilai *hRf* 6, 15, 74, dan 85. Bercak dengan nilai *hRf* 6 menunjukkan warna coklat muda dengan kepolaran relatif tinggi. Dua bercak dengan nilai *hRf* 15 dan 74 mempunyai warna hijau kecoklatan dan coklat kehijauan. Bercak terakhir dengan nilai *hRf* 85 mempunyai warna hijau tua kekuningan.

Menurut Harborne (1987), deteksi senyawa fenol dengan penambahan penampak bercak FeCl_3 akan menimbulkan warna hijau, merah, coklat, ungu, biru, atau hitam yang kuat. Kromatogram

setelah disemprot dengan penampak bercak FeCl_3 , bercak dengan nilai *hRf* 6 mempunyai warna coklat muda sehingga kemungkinan mengandung senyawa fenol namun dengan kadar yang kecil. Bercak dengan nilai *hRf* 74 mempunyai warna coklat kehijauan sehingga kemungkinan juga mempunyai senyawa fenol. Bercak dengan nilai *hRf* 15 dan 85, sebelum disemprot FeCl_3 menghasilkan warna yang kurang intensif. Setelah disemprot FeCl_3 , warna kedua bercak yaitu hijau kecoklatan dan hijau tua kekuningan menjadi lebih intensif. Hal ini dapat menunjukkan kemungkinan bahwa kedua bercak tersebut mengandung senyawa fenol.

Deteksi selanjutnya adalah deteksi untuk senyawa flavonoid. Menurut Wagner dan Bladt (1996), flavonoid menghasilkan peredaman fluoresensi pada sinar UV254 dan menunjukkan fluoresensi kuning, hijau atau biru serta dapat menjadi lebih intensif ataupun berubah dengan penambahan penampak bercak. Kromatogram sebelum disemprot penampak bercak sitroborat menunjukkan terdapat tiga bercak yang terlihat pada pengamatan sinar tampak dan sinar UV254. Ketiga bercak tersebut mempunyai nilai *hRf* 15, 60, dan 85. Bercak yang terlihat dibawah sinar UV254 menunjukkan peredaman namun tidak intensif karena tertutupi warna dari bercak. Pada sinar tampak berwarna hijau muda, kuning dan hijau kekuningan sementara dibawah sinar UV254 terlihat berwarna coklat muda, hijau muda dan hijau. Warna-warna tersebut merupakan warna bercak dari senyawa ditotolkan pada pelat KLT. Untuk pengamatan di bawah sinar UV366, bercak yang didapatkan adalah enam bercak dengan masing-masing nilai *hRf* 15, 25, 48, 58, 75, dan 85. Bercak dengan nilai *hRf* 25, 58, 75 dan 85 berwarna merah ataupun merah gelap. Klorofil memberikan bercak berwarna merah pada pengamatan di bawah sinar UV366. Klorofil

mempunyai sifat non-polar sehingga bercak dengan nilai hRf besar yaitu 75 dan 85 kemungkinan adalah klorofil ataupun senyawa lain yang tertutupi oleh klorofil. Bercak dengan warna merah dengan nilai hRf 25 dan 58 mempunyai sifat relative lebih polar sehingga kemungkinan adalah senyawa golongan lain.

Penggunaan penampak bercak sitroborat untuk deteksi senyawa golongan flavonoid. Kromatogram ekstrak metanolik *Garcinia dulcis* (Roxb.) Kurz sesudah disemprot sitroborat yang akan bereaksi dengan gugus orto-dihidroksi pada struktur flavonoid dan akan memberikan warna kuning terang dengan deteksi dibawah sinar UV366. Kromatogram sesudah disemprot penampak bercak sitroborat menunjukkan profil yang hampir sama dengan kromatogram sebelum disemprot. Pada pengamatan di bawah sinar UV254, bercak yang dihasilkan tetap berjumlah tiga bercak. Nilai hRf untuk masing-masing bercak adalah 15, 60, dan 85 yang berwarna coklat muda, hijau muda dan hijau. Di bawah sinar UV366, didapatkan tujuh bercak, selisih satu bercak dengan profil sebelum disemprot sitroborat, dengan nilai masing-masing hRf 15, 25, 48, 50, 58, 75, dan 85. Satu bercak yang berbeda pada pengamatan UV366 yakni bercak dengan nilai hRf 50 dengan warna kuning. Bercak ini muncul setelah disemprot dengan penampak bercak sitroborat. Menurut Markham (1988), warna bercak kuning di bawah sinar UV 366 kemungkinan mempunyai struktur dasar flavonol yang mengandung 3-OH bebas dengan atau tanpa 5-OH bebas serta mengandung gugus orto-dihidroksi. Bercak berwarna kuning yang muncul setelah disemprot penampak bercak sitroborat ini menunjukkan bahwa kemungkinan di dalam *Garcinia dulcis* (Roxb.) Kurz mengandung senyawa flavonoid berstruktur dasar flavonol mengandung 3-OH bebas dengan atau tanpa 5-OH bebas serta gugus orto-dihidroksi.

KESIMPULAN

Nilai IC_{50} menggunakan metode DPPH adalah sebagai berikut: *Garcinia dulcis* (Roxb.) Kurz, ekstrak wasbenzen 139,381 μ g/mL dan ekstrak metanolik 36,381 μ g/mL; *Blumea mollis* (D.Don) Merr., ekstrak wasbenzen 140,299 μ g/mL dan ekstrak metanolik 299,367 μ g/mL; *Siegesbeckia orientalis* L., ekstrak wasbenzen 448,221 μ g/mL dan ekstrak metanolik 108,492 μ g/mL; *Salvia riparia* H.B.K, ekstrak wasbenzen 261,810 μ g/mL dan ekstrak metanolik 370,250 μ g/mL. Analisis kualitatif dengan Kromatografi Lapis Tipis menunjukkan ekstrak metanolik *Garcinia dulcis* (Roxb.) Kurz

mengandung senyawa golongan fenol dan golongan flavonoid.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini didanai dari Hibah Fakultas Farmasi UGM, kategori Madya 2009.

DAFTAR PUSTAKA

- Alonzo, D.S. 1999. Blumea DC dalam De Padua, L.S., Bunyapraphatsara, N., Lemmens, R.H.M.J (Eds), 1999, *Plants Resources of South East Asia: Medicinal and Poisonous Plants 1 No12 (1)*, Prosea Foundation, Bogor. pp. 155-160.
- Harborne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*, diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata dan Iwang Sudiro, Penerbit ITB, Bandung. pp.9-71.
- Hutapea, J.R. dan Djumidi. 2000. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia (I)* edisi1, Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Departemen Kesehatan dan Kesejahteraan RI, Jakarta. pp. 119-120.
- Javanmardi, J., Stushnoff, C., Locke, E., Vivanco, J.M. 2003. Antioxidant Activity and Total Phenolic Content of Iranian *Ocimum* Accessions, *Food Chemistry No.83*, pp.547-550.
- Jiang, Z.L, Zhou, Y., Ge, W.C., Yuan, K., 2014, Phytochemical compositions of volatile oil from *Blumea balsamifera* and their biological activities, *Pharmacogn Mag.* 10(39):346-52.
- Markham, K.R.1988. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*, diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata, Penerbit ITB, Bandung. pp. 1-15.
- Maslarova, N.V.Y. 2001. Inhibiting Oxidation, dalam Pokorny, J., Yanishlieva, N., and Gordon, M. 2001. *Antioxidants in Food : Practical Applications*, CRC Press, New York. pp. 42-48.
- Milbury, P.E. dan Richer, A.C. 2008. *Understanding The Antioxidants Controversy : Scrutinizing the "Fountain of Youth"*, Praeger Publishers, Westport, Connecticut. pp. 32-38.
- Nickavar, B., Kamalinejad, M., Izadpanah. 2007. *In Vitro* Free Radical Scavenging Activity of Five *Salvia* Species, *Pak.J.Pharm.Sci.*, 20(4). pp.291-294.
- Proteggente, A.R., Evans, C.A.R., Wiseman, S., VandePut, F.H.M.M., The Relationship Between the Phenolic Composition and the Antioxidant Activity of Fruits and Vegetables dalam Evans, C.A.R and Parker, L. (Eds). 2003. *Flavonoids in Health and*

- Disease*, 71, Marcel Dekker, Inc., Los Angeles, California.
- Rohman, A. dan Riyanto, S. 2005. Daya Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Kemuning (*Murraya paniculata* (L.) Jack) secara *in vitro*, *Majalah Farmasi Indonesia*, 16(3), pp.136-140.
- Sukamat dan Ersam, T. 2006. Dua Senyawa Santon dari Kayu Batang Mundu *Garcinia dulcis* (Roxb.) Kurz. sebagai Antioksidan, 1-5, *Seminar Nasional Kimia VIII*, Surabaya.
- Wagner, H., dan Bladt, S. 1996. *Plant Drug Analysis, A Thin Layer Chromatography Atlas*, 2nd Ed., Springer Verlag, Berlin. pp 195-197.