

PENAPISAN FRAKSI ANTIOKSIDAN DAUN BUAS-BUAS (*Premna serratifolia* Linn)**Eka Oktaviani^{1*}, M. Agus Wibowo¹, Nora Idiawati¹**¹Program Studi Kimia, Fakultas MIPA Universitas Tanjungpura,
Jl. Prof. Dr. H. Hadari Nawawi, Pontianak

*Email: eka0592@gmail.com

ABSTRAK

Aktivitas antioksidan tumbuhan buas-buas (*Premna serratifolia* Linn) telah diketahui terdapat pada ekstrak akar, batang, serta daunnya. Selain memiliki aktivitas antioksidan, daunnya juga aktif sebagai hepatoprotektif, antitumor, antibakteri, antifungi, dan larvasida terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti*. Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui aktivitas antioksidan fraksi *n*-heksana, kloroform, dan metanol daun buas-buas dan mengetahui golongan senyawa antioksidan yang telah difraksinasi berdasarkan uji fitokimia. Ekstraksi daun dilakukan dengan cara maserasi dan partisi. Hasil partisi dilakukan uji fitokimia dan uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil). Fraksi yang memiliki aktivitas antioksidan terbesar difraksinasi menggunakan metode kromatografi vakum cair, kromatografi lapis tipis, dan kromatografi kolom gravitasi. Hasil uji fitokimia menunjukkan fraksi *n*-heksana mengandung senyawa steroid, fraksi kloroform mengandung senyawa alkaloid, polifenol, steroid, dan saponin. Fraksi metanol mengandung senyawa flavonoid, polifenol, terpenoid, dan saponin. Nilai IC_{50} dari fraksi *n*-heksana, kloroform, dan metanol daun buas-buas adalah 15,2240 $\mu\text{g/ml}$, 8,7729 $\mu\text{g/ml}$, dan 20,3418 $\mu\text{g/ml}$, dimana fraksi kloroform menunjukkan aktivitas antioksidan terbesar. Hasil fraksinasi (fraksi $E_{5.7.3.5}$) diidentifikasi menggunakan reagen Dragendorff yang menunjukkan adanya golongan senyawa alkaloid.

Kata Kunci: *Premna serratifolia* Linn, antioksidan, alkaloid

PENDAHULUAN

Kalimantan Barat merupakan suatu daerah yang kaya akan sumber daya alam. Berbagai jenis tumbuhan dengan keanekaragaman spesies tumbuh subur pada daerah ini. Salah satunya yaitu tumbuhan buas-buas (*Premna serratifolia* L.). Buas-buas merupakan suatu tanaman semak dengan tinggi hingga 9 meter yang termasuk ke dalam famili Verbenaceae. Batangnya tidak terlalu besar dan memiliki banyak cabang (Vavidu *et al.*, 2009). Tanaman ini tumbuh di pekarangan rumah atau diperkebunan. Masyarakat biasa memanfaatkan daunnya sebagai bahan pangan. Menurut Warrier *et al* (1995) bagian-bagian tanaman ini biasa digunakan sebagai obat herbal, di antaranya sebagai antitumor, neuralgia, inflamasi, kelainan jantung, hepatoprotektif, batuk, asma, bronkitis, perut kembung, dan wasir.

Muthukumar *et al* (2013) melaporkan bahwa ekstrak kayu dari tanaman buas-buas menunjukkan aktivitas antioksidan terhadap DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil), ABTS

(2,2-azinobis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid)), dan H_2O_2 (hidrogen peroksida) dengan nilai IC_{50} berturut-turut 155 $\mu\text{g/ml}$, 211 $\mu\text{g/ml}$, dan 619 $\mu\text{g/ml}$. Akarnya memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi yang disebabkan oleh adanya suatu senyawa *acteoside*. Senyawa ini memiliki nilai IC_{50} 4x lebih tinggi dibandingkan ekstrak kasar kayu buas-buas. Penelitian-penelitian sebelumnya telah banyak melaporkan mengenai bioaktivitas dari *acteoside*, diantaranya yaitu memiliki aktivitas antiinflamasi, hepatoprotektif, dan dapat menghambat pembelahan sel leukemia pada manusia (Bose *et al.*, 2013). Aktivitas antimikrobia juga ditunjukkan oleh ekstrak akar tanaman ini sedangkan daunnya memiliki aktivitas biologis tersendiri (Rajendran dan Basha, 2010).

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan Selvam *et al* (2012), ekstrak alkohol daun *P. serratifolia* yang diuji terhadap beberapa sel kanker yaitu sel MCF7, HepG2, dan A549 diketahui bahwa daun tanaman ini memiliki sitotoksitas yang tinggi sehingga berpotensi sebagai

antikanker. Dalam penelitian Purba (2014) juga melaporkan bahwa ekstrak kasar daun buas-buas memiliki aktivitas antioksidan sebesar 227,72 $\mu\text{g/ml}$ yang diuji menggunakan metode DPPH. Aktivitas sitotoksitasnya yang dinyatakan dalam nilai GI_{50} terhadap sel kanker MCF7 sebesar $11.3 \pm 0.63 \mu\text{g/ml}$ dengan nilai kontrol positif berupa obat andriamycin yaitu $<10 \mu\text{g/ml}$. Vavidu *et al* (2009) dan Sing (2011) menambahkan bahwa ekstrak alkohol daun ini juga memiliki aktivitas hepatoprotektif, antitumor, dan antimikroba. Sejauh ini senyawa metabolit sekunder yang diketahui berperan di dalam ekstrak alkohol daun buas-buas adalah senyawa golongan alkaloid, flavonoid, dan triterpenoid yang dideteksi dengan uji fitokimia. Oleh karena itu maka pada penelitian ini dilakukan penapisan fraksi antioksidan dari daun buas-buas tersebut.

METODOLOGI PENELITIAN

Bahan Tanaman

Sampel yang digunakan adalah daun buas-buas (*P. serratifolia*). Sampel diperoleh dari hutan yang berada di jalan Sepakat I Pontianak, Kalimantan Barat. Keakuratan spesies tanaman dideterminasi di Herbarium LIPI Bogor.

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan diantaranya: seperangkat alat gelas, alat evaporasi, kromatografi vakum cair (KCV), kromatografi lapis tipis (KLT), kromatografi kolom gravitasi (KKG), dan spektrofotometer UV-Vis.

Bahan-bahan yang digunakan adalah berbagai jenis pelarut organik, pereaksi uji fitokimia, silika gel 60 (70-230 mesh), plat kromatografi lapis tipis silika gel 60 F_{254} (merck) dan 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH).

Preparasi Sampel

Sampel daun buas-buas berasal dari kota Pontianak, Kalimantan Barat. Daun buas-buas dibersihkan, kemudian dipotong tipis-tipis dan dikering-anginkan. Sampel yang telah kering dihaluskan sampai menjadi serbuk.

Maserasi dan Partisi

Serbuk daun buas-buas sebanyak 1 kg dimaserasi selama 3x24 jam pada suhu

kamar dengan metanol yang telah didestilasi. Maserat kemudian disaring, filtrat yang diperoleh diuapkan pelarutnya menggunakan *rotary evaporator* sehingga diperoleh 79,98 g maserat kental metanol.

Maserat kental etanol dipartisi berturut-turut dengan *n*-heksana dan kloroform, sehingga diperoleh fraksi *n*-heksana, kloroform dan metanol. Fraksi kloroform kemudian dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* sehingga diperoleh 18,21 g fraksi kloroform.

Uji Fitokimia

Uji fitokimia dilakukan terhadap masing-masing fraksi untuk mengidentifikasi golongan alkaloid, flavonoid, tanin/polifenol, terpenoid, steroid, dan saponin. Metode yang digunakan adalah sebagai berikut :

Alkaloid

Sampel ditambahkan dengan 5 ml kloroform dan 5 ml amoniak kemudian dipanaskan dan dikocok. Hasil campuran disaring dan dimasukkan ke tabung reaksi. Masing-masing filtrat ditambahkan 5 tetes asam sulfat 2 N, kemudian dikocok dan didiamkan. Bagian atas dari masing-masing filtrat diambil dan diuji dengan reagen Meyer, Wagner, dan Dragendorff. Terbentuknya endapan putih atau coklat muda hingga kuning menunjukkan adanya alkaloid (Harborne, 1987).

Flavonoid

Sampel ditambahkan dengan 5 ml etanol, kemudian dikocok dan dipanaskan. Hasil campuran disaring dan dimasukkan ke tabung reaksi. Selanjutnya pada masing-masing filtrat kemudian ditambahkan Mg 0,2 g dan 3 tetes asam klorida. Terbentuknya warna merah pada lapisan etanol menunjukkan adanya flavonoid (Harborne, 1987).

Terpenoid-steroid

Sampel ditambahkan reagen Lieberman-Burchard. Larutan dikocok perlahan, dibiarkan selama beberapa menit. Steroid memberikan warna biru atau hijau, untuk triterpenoid memberikan warna merah atau ungu (Harborne, 1987).

Saponin

Uji Saponin dilakukan dengan metode Forth yaitu dengan cara memasukkan 2 ml

sampel kedalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 10 ml akuades lalu dikocok selama 30 detik, diamati perubahan yang terjadi. Apabila terbentuk busa yang mantap (tidak hilang selama 30 detik) maka identifikasi menunjukkan adanya saponin (Marliana *et al.*, 2005).

Tanin/Polifenol

Adanya tanin pada sampel dapat dideteksi dengan uji menggunakan reagen Gibbs (FeCl_3 1%). Uji positif golongan tanin menghasilkan warna biru kehitaman atau warna hijau kehitaman (Rorong *et al.*, 2012).

Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

Sebanyak 2 ml larutan sampel dari masing-masing fraksi dengan variasi konsentrasi 5; 10; 15; 20 dan 25 $\mu\text{g/ml}$ (fraksi metanol dan *n*-heksana), 4; 8; 12; 16 dan 20 $\mu\text{g/ml}$ (fraksi kloroform) dicampurkan dengan 2 ml larutan DPPH 0,002%, kemudian campuran didiamkan selama 30 menit. Perlakuan yang sama juga dilakukan untuk larutan blanko (Larutan blanko terdiri dari 2 ml DPPH dan 2ml metanol) dan kontrol positif vitamin C dengan konsentrasi 1;2;3 ;4 dan 5 $\mu\text{g/ml}$. Absorbansinya diukur pada λ_{maks} 517 nm dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Kekuatan inhibisinya dihitung menggunakan rumus:

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

Selanjutnya, data yang diperoleh diinterpretasikan ke dalam grafik konsentrasi terhadap kekuatan inhibisi. Persamaan garis yang diperoleh kemudian digunakan untuk mencari nilai IC_{50} (Kekuda *et al.*, 2009 ; Pranata, 2013).

Pemisahan Fraksi Kloroform

Kromatografi cair vakum (KCV)

Fraksi kloroform (15 g) difraksinasi dengan KVC menggunakan silika gel 60 sebagai fasa diam. Sampel kemudian dielusi dengan kombinasi pelarut bergradien *n*-heksana 100%, *n*-heksana : etil asetat (3:1,1:1,1:3), etil asetat 100%, etil asetat : metanol (5:1,3:1,1:1,3,1:5), metanol 100%, metanol : aquades (5:1,3:1,1:1), dan aquades 100%, sehingga diperoleh 5 fraksi gabungan (E_1 - E_6). Fraksi E_5 (8,74 g) dipilih

untuk dilakukan pemurnian lanjutan dengan kromatografi kolom gravitasi (KKG).

Kromatografi kolom gravitasi (KKG)

Fraksi E_5 (8,74 g) difraksinasi dengan KKG I menggunakan kombinasi eluen bergradien dari hasil analisis KLT yaitu *n*-heksana 100%, kloroform 100%, kloroform-etil asetat (2:1,1:1,1:2), etil asetat 100%, etil asetat-metanol (2:1,1:1,1:2), metanol 100%, dan akuades 100%. Fraksi digabung sehingga diperoleh 8 fraksi ($E_{5.1}$ - $E_{5.8}$). Fraksi $E_{5.7}$ (3,65 g) diteruskan pada tahap KKG II, dielusi dengan eluen kloroform-metanol (10:1,1:1) metanol 100%, dan akuades 100%, sehingga diperoleh 13 fraksi gabungan ($E_{5.7.1}$ - $E_{5.7.13}$).

Fraksi $E_{5.7.3}$ (0,0318 g) dipisahkan dengan KKG III secara isokratik dengan eluen kloroform-metanol (10:1), sehingga diperoleh 10 fraksi gabungan. Fraksi $E_{5.7.3.5}$ (42 mg) dilakukan uji keberadaan senyawa antioksidan dan diidentifikasi golongan senyawa kimianya dengan uji fitokimia.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji Fitokimia Fraksi *n*-Heksana, Kloroform, Dan Metanol Daun Buas-buas

Uji fitokimia bertujuan untuk mengetahui golongan senyawa yang terkandung di dalam ekstrak. Golongan senyawa tersebut meliputi alkaloid, flavonoid, terpenoid, steroid, tanin/fenolik, dan saponin. Masing-masing golongan senyawa akan memberikan respon berbeda terhadap reagen tertentu. Uji fitokimia ini termasuk uji secara kualitatif, dimana identifikasi senyawa golongan senyawa didasarkan atas perubahan warna yang dialami sampel. Hasil uji fitokimia dari masing-masing fraksi dapat dilihat pada Tabel 1. Fraksi *n*-heksana positif mengandung golongan senyawa steroid. Fraksi kloroform positif mengandung golongan senyawa alkaloid, polifenol, steroid, dan saponin. Fraksi metanol positif mengandung golongan senyawa flavonoid, polifenol, terpenoid, dan saponin.

Masing-masing fraksi memperlihatkan hasil yang negatif terhadap uji terhadap reagen Meyer dan Dragendorff, namun positif terhadap uji reagen Wagner dimana terbentuk endapan coklat muda. Uji fitokimia terhadap golongan senyawa alkaloid menggunakan reagen Mayer akan positif jika terbentuk endapan putih. Hasil positif alkaloid pada uji Wagner ditandai dengan

terbentuknya endapan coklat muda sampai kuning. Endapan coklat muda hingga kuning yang terbentuk merupakan hasil uji positif alkaloid menggunakan reagen Dragendorff. Endapan-endapan yang terbentuk ini adalah kalium-alkaloid (Marliana *et al.*, 2005).

Tabel 1. Hasil Uji Fitokimia Fraksi *n*-heksana, kloroform, dan metanol

Golongan Senyawa	Fraksi 1	Fraksi 2	Fraksi 3
Alkaloid:			
Meyer	-	-	-
Dragendorff	-	-	-
Wagner	-	+	-
Flavonoid	-	-	+
Tanin/Polifenol	-	+	+
Terpenoid	-	-	+
Steroid	+	+	-
Saponin	-	+	+

Keterangan : - = Tidak terdeteksi ; + = Terdeteksi

Fraksi 1 = *n*-heksana

Fraksi 2 = kloroform

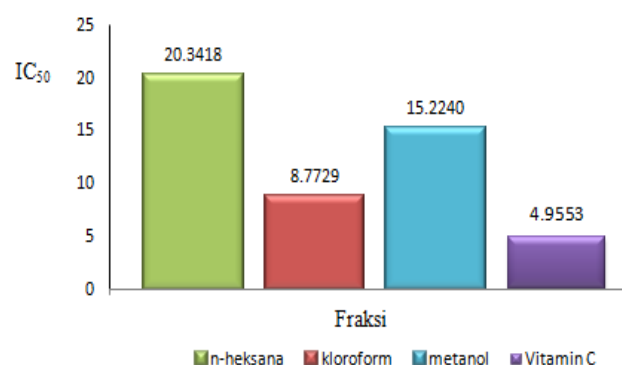
Fraksi 3 = metanol

Tanin merupakan senyawa fenolik yang akan membentuk senyawa kompleks dengan Fe^{3+} sehingga muncul warna biru kehitaman (Kristianto, 2013). Berdasarkan hasil pengujian, fraksi kloroform dan metanol positif memberikan warna biru kehitaman dengan reagen FeCl_3 1%. Hasil uji terpenoid/steroid terhadap fraksi *n*-heksana dan kloroform memberikan warna hijau yang menunjukkan adanya senyawa golongan steroid. Fraksi metanol memberikan warna coklat kemerahan yang menunjukkan adanya golongan senyawa terpenoid (Harborne, 1987).

Uji senyawa flavonoid dilakukan dengan metode Wilstater, dimana hasil positif terhadap flavonoid ditunjukkan dengan timbulnya warna merah yang disebabkan terbentuknya garam flavilium. Fraksi metanol mengalami perubahan warna merah setelah dilakukan uji ini, sedangkan fraksi *n*-heksana dan kloroform tidak terbentuk warna merah. Uji Saponin dilakukan dengan metode Forth, yaitu hidrolisis saponin dalam air. Timbulnya busa pada uji Forth menunjukkan adanya glikosida yang mempunyai kemampuan membentuk buih dalam air yang terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lainnya (Marliana *et al.*, 2005).

Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi *N*-Heksana, Kloroform, dan Metanol Daun Buas-buas

Tujuan pengukuran aktivitas antioksidan dari fraksi *n*-heksana, kloroform, dan metanol daun buas-buas adalah untuk mengetahui nilai IC_{50} terkecil dari ketiga fraksi tersebut. Fraksi dengan nilai IC_{50} terkecil (kemampuan peredaman terbesar) selanjutnya akan dilanjutkan untuk dipisahkan senyawa antioksidannya. Uji aktivitas antioksidan terhadap ketiga fraksi dilakukan menggunakan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil). Prinsip dari metode DPPH adalah senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan akan mendonorkan atom hidrogennya untuk berikatan dengan DPPH membentuk DPPH tereduksi yang ditandai dengan kehilangan warna ungu menjadi kuning pucat disertai penurunan nilai absorbansi (Molyneux, 2004). Data yang diperoleh kemudian diinterpretasikan ke dalam grafik konsentrasi terhadap kekuatan inhibisi (% inhibisi). Sehingga diperoleh nilai IC_{50} yang menyatakan konsentrasi yang dibutuhkan untuk menghambat radikal sebanyak 50%. Semakin kecil nilai IC_{50} maka aktivitas peredaman radikalnya semakin kuat (Molyneux, 2004).



Gambar 1. Nilai IC_{50} dari fraksi *n*-heksana, kloroform, metanol, dan vitamin C

Berdasarkan Gambar 1, terlihat nilai IC_{50} dari masing-masing fraksi. Nilai IC_{50} fraksi *n*-heksana, kloroform, dan metanol adalah 15,2240 $\mu\text{g/ml}$, 8,77290 $\mu\text{g/ml}$, dan 20,3418 $\mu\text{g/ml}$. Vitamin C sebagai kontrol positif juga dilakukan uji aktivitas antioksidannya dengan nilai IC_{50} 4,9553 $\mu\text{g/ml}$. Ketiga fraksi memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat karena nilai IC_{50} fraksi-fraksi tersebut berada di bawah 50 $\mu\text{g/ml}$ (Pranata, 2013). Fraksi kloroform menunjukkan aktivitas

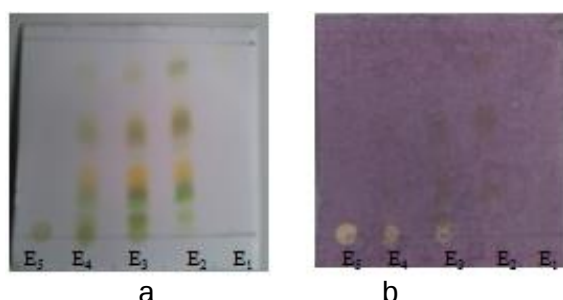
antioksidan terbesar. Aktivitas antioksidan fraksi kloroform lebih tinggi dari pada fraksi *n*-heksana disebabkan fraksi ini hanya mengandung senyawa steroid sedangkan fraksi kloroform selain mengandung senyawa steroid juga mengandung senyawa alkaloid, saponin, dan polifenol. Fraksi yang akan dilanjutkan untuk dipisahkan adalah fraksi kloroform karena memiliki nilai IC_{50} terendah.

Pemisahan Fraksi Kloroform

Pemisahan dari fraksi kloroform dibagi menjadi beberapa tahap, yaitu metode kromatografi vakum cair (KVC), kromatografi kolom gravitasi I (KKG I), KKG II, dan KKG III.

Kromatografi Vakum Cair (KVC)

Kromatografi Vakum Cair bertujuan untuk memisahkan senyawa-senyawa di dalam ekstrak kloroform. Sampel tersebut bermigrasi terhadap fasa diam dan fasa gerak dengan cepat karena berada dalam suasana vakum. Pemisahan ini menghasilkan 21 fraksi. Semua fraksi hasil KVC dimonitoring menggunakan KLT dengan eluen heksana : kloroform (1:5). Selanjutnya diperoleh 5 fraksi (E_1 - E_5) hasil penggabungan fraksi-fraksi di atas. Penggabungan fraksi dilakukan berdasarkan pola noda yang sama pada plat KLT. Terbentuknya pola noda yang sama mengindikasikan bahwa fraksi tersebut mengandung senyawa-senyawa yang sama. Oleh karena itu, fraksi dengan pola noda yang sama digabungkan menjadi satu. Kelima fraksi dielusi kembali dengan metode KLT kemudian disemprot menggunakan larutan DPPH (Gambar 2).



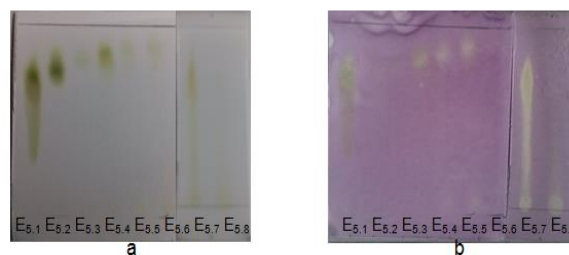
Gambar 2. Profil kromatogram E_1 - E_5 , a) sebelum disemprot, b) sesudah disemprot menggunakan larutan DPPH

Fraksi E_5 menunjukkan warna kuning pucat yang lebih dominan dibandingkan fraksi yang lain. Hal ini mengindikasikan bahwa fraksi E_5 lebih aktif menangkap radikal dibandingkan fraksi lain. Warna kuning pucat dengan latar belakang ungu muncul akibat adanya senyawa DPPH yang mengalami reduksi setelah bereaksi dengan ekstrak. Berat dari fraksi ini juga yang terbesar dibandingkan fraksi-fraksi lain sehingga fraksi ini dipilih untuk dilanjutkan pemisahannya menggunakan KKG I.

Kromatografi Kolom Gravitasi I (KKG I)

Pemisahan menggunakan KKG I menghasilkan 95 fraksi. Semua fraksi tersebut dimonitoring menggunakan KLT dengan eluen etil asetat-metanol (3:7). Berdasarkan hasil monitoring, diperoleh 8 fraksi penggabungan ($E_{5.1}$ - $E_{5.8}$). Kedelapan fraksi tersebut dielusi menggunakan etil asetat-metanol (3:7) kemudian disemprot menggunakan larutan DPPH (Gambar 3).

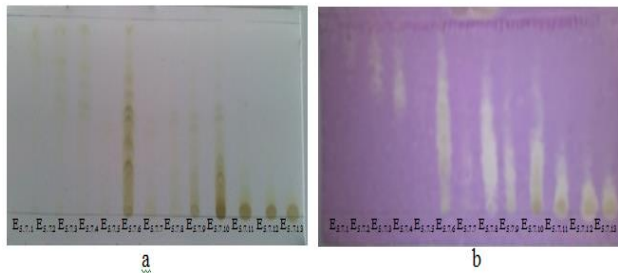
Fraksi $E_{5.7}$ dipilih untuk selanjutnya dipisahkan senyawa antioksidannya menggunakan metode KKG II. Pemilihan ini didasarkan atas terbentuknya warna kuning dengan latar belakang ungu yang dominan pada fraksi tersebut dan berat fraksi ini lebih besar dibandingkan fraksi-fraksi lainnya.



Gambar 3. Profil kromatogram $E_{5.1}$ - $E_{5.8}$, a) sebelum disemprot, b) sesudah disemprot menggunakan larutan DPPH

Kromatografi Kolom Gravitasi II (KKG II)

Pemisahan menggunakan KKG II menghasilkan 61 fraksi. Semua fraksi tersebut dimonitoring menggunakan KLT dengan eluen kloroform-metanol (10:1). Berdasarkan hasil monitoring, diperoleh 13 fraksi penggabungan ($E_{5.7.1}$ - $E_{5.7.13}$). Fraksi-fraksi tersebut dielusi menggunakan kloroform-metanol (10:1) kemudian disemprot menggunakan larutan DPPH (Gambar 4).



Gambar 4. Profil kromatogram $E_{5.7.1}$ - $E_{5.7.13}$, a) sebelum disemprot, b) sesudah disemprot menggunakan larutan DPPH

Fraksi yang dipilih dari 13 fraksi yang dihasilkan dari KKG II adalah fraksi $E_{5.7.3}$. Fraksi ini dipilih berdasarkan kemudahan memperoleh senyawa antioksidan dibandingkan fraksi-fraksi yang lainnya. Fraksi ini juga memiliki berat yang lebih besar dibandingkan fraksi $E_{5.7.1}$ - $E_{5.7.5}$ dengan pola noda yang lebih sederhana dibandingkan fraksi $E_{5.7.6}$ - $E_{5.7.13}$. Noda yang terbentuk dari fraksi ini berjumlah 5 noda. Selain itu, fraksi-fraksi yang mengandung senyawa sangat polar (seperti pada fraksi $E_{5.7.6}$ - $E_{5.7.13}$) akan tertahan pada kolom dan memiliki tingkat kesulitan yang cukup tinggi untuk dipisahkan dengan metode kromatografi kolom normal (fasa diam polar dan fasa gerak nonpolar). Kromatografi fase terbalik lebih sesuai digunakan sebagai metode pemisahannya. Akan tetapi, kromatografi fase terbalik sulit diterapkan karena membutuhkan biaya yang cukup besar (Hayun *et al.*, 2004 ; Sundari, 2010).

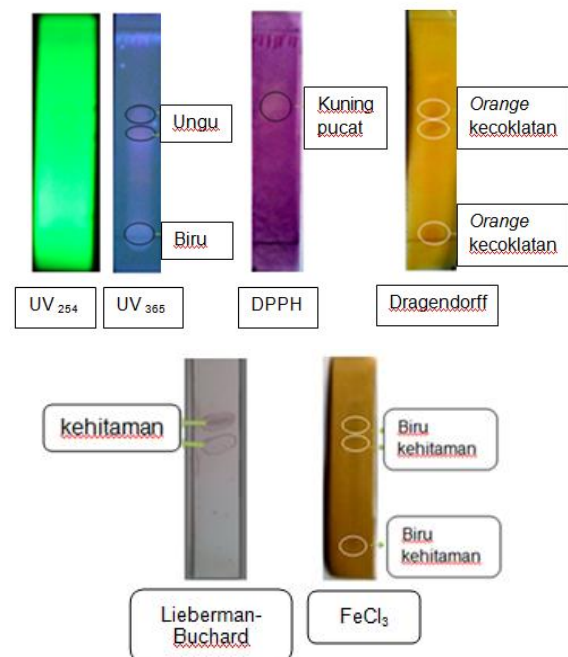
Kromatografi Kolom Gravitasi III (KKG III)

Pemisahan menggunakan KKG III menghasilkan 31 fraksi. Semua fraksi tersebut dimonitoring menggunakan KLT dengan eluen kloroform-metanol (10:1). Berdasarkan hasil monitoring, diperoleh 10 fraksi penggabungan ($E_{5.7.3.1}$ - $E_{5.7.3.10}$). Fraksi yang dipilih untuk selanjutnya diidentifikasi adalah fraksi $E_{5.7.3.5}$. Pemilihan fraksi ini dikarenakan fraksi ini memiliki berat terbesar. Fraksi $E_{5.7.3.5}$ selanjutnya diidentifikasi menggunakan uji fitokimia, dan uji keberadaan senyawa antioksidan.

Uji Fitokimia dan Uji Antioksidan Fraksi $E_{5.7.3.5}$

Uji fitokimia dilakukan menggunakan reagen semprot yang meliputi penentuan golongan senyawa alkaloid, fenolik, dan terpenoid. Uji antioksidan menggunakan

larutan DPPH, dengan hasil uji positif jika terbentuk noda kuning pucat dengan latar belakang ungu.



Gambar 5. Hasil uji fitokimia dan uji antioksidan dari fraksi $E_{5.7.3.5}$

Berdasarkan Gambar 5, diketahui bahwa senyawa yang terdapat di dalam fraksi tersebut termasuk ke dalam golongan senyawa alkaloid. Menurut Wagner dan Bladt (1996), senyawa alkaloid memberikan bercak dengan fluoresensi biru, hijau biru atau ungu jika diamati di bawah sinar UV 366 nm. Jika disemprot dengan reagen Dragendorff bercak akan berwarna coklat atau coklat *orange*. Bercak yang terdeteksi memberikan warna *orange* kecoklatan setelah disemprot dengan reagen Dragendorff.

Hasil uji menggunakan $FeCl_3$ memberikan warna biru kehitaman pada plat KLT. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa alkaloid yang terdapat di dalam fraksi $E_{5.7.3.5}$ mengandung gugus fenolik. Hasil uji antioksidan menggunakan larutan DPPH memberikan bercak melebar berwarna kuning pucat dengan latar belakang ungu pada plat. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa pada fraksi tersebut positif memiliki aktivitas antioksidan.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa nilai IC₅₀ dari fraksi *n*-heksana, kloroform, dan metanol daun buas-buas adalah 15,2240 µg/ml, 8,77290 µg/ml, dan 20,3418 µg/ml. Uji fitokimia terhadap fraksi E_{5.7.3.5} menggunakan reagen Dragendroff menunjukkan bahwa fraksi tersebut mengandung senyawa golongan alkaloid.

DAFTAR PUSTAKA

- Bose LV, Varghese GK, dan Habtemariam S. 2013. Identification of Acteoside as the Active Antioxidant Principle of *Premna serratifolia* Root Wood Tissues. *Phytopharmacology* : 228-236.
- Harborne JB. 1987. *Metode Fitokimia : Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Penerjemah: K. Padmawinata dan I. Soediro, terbitan ke-2, Penerbit ITB. Bandung.
- Hayun, Harahap Y, dan Aziza CN. 2004. Penetapan Kadar Sakarin, Asam Benzoat, Asam Sorbat, Kofeina, dan Aspartam di dalam Beberapa Minuman Ringan Bersoda secara Kromatografi Cair Kinerja Tinggi. *Majalah Ilmu Kefarmasian*. 1 (3) : 148 – 159.
- Kekuda TR, Vinayaka KS, Kumar SV, dan Dudharshan SJ. 2009. Antioxidant and antibacterial activity of lichen extracts, honey and their combination. *Journal of Pharmacy Research*, 2(12) : 1875-1878.
- Kristianto A. 2013. *Pengaruh Ekstrak Kasar Tanin dari Daun Belimbing Wuluh (Averrhoa bilimbi L.) pada Pengolahan Air*. FMIPA. Universitas Jember. (Skripsi).
- Marliana SD, Suryanti V, dan Suyono. 2005. Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechium edule* Jacq. Swartz.) dalam Ekstrak Etanol. *Biofarmasi*. 3 (1): 26-31.
- Molyneux, P. 2004. The Use of The Stable Free Radical Diphenyl picrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. *Songklanakarin J. Sci. Technol.* 26 (2) : 211-219.
- Muthukumaran P, Salomi S, dan Umamaheshwari R. 2013. In Vitro Antioxidant Activity of *Premna serratifolia* Linn. *Asian J. Res. Pharm. Sci.* 3(1) : 15-18.
- Pranata, R. 2013. Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Kloroform Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus lemairei* Britton dan Rose) Menggunakan Metode DPPH (1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil). Universitas Tanjungpura. (Skripsi).
- Purba, DM. 2014. Uji Aktivitas Antioksidan dan Sitotoksitas Daun Buas-Buas (*Premna serratifolia* Linn), Sengkubak (*Pycnarrhena cauliflora* Diels), Kesum (*Polygonum minus*). Universitas Tanjungpura. (Skripsi).
- Rajendran R dan Basha NS. 2010. Antimicrobial Activity of Crude Extracts and Fractions of *Premna serratifolia* Lin. Root. *Medicinal Plants*, 2 (1) : 1-6.
- Rorong JA, Sudiarso, Prasetya B, Mandang JP, Suryanto E. 2012. Analisis Fitokimia Limbah Pertanian Daun Cengkih (*Eugenia aromatica*) sebagai Biosensitizer Untuk Fotoreduksi Besi. *Prosiding Seminar Nasional Kimia Unesa*. 25 Februari 2012. Surabaya.
- Selvam TN, Venkatakrishnan V, Damodar KS, dan Elumalai P. 2012. Antioxidant and Tumor Cell Suppression Potential of *Premna serratifolia* Linn Leaf. *Toxicol Int.* 19(1): 31–34.
- Sing CR. 2011. Antimicrobial Effect of Callus and Natural Plant Extracts of *Premna serratifolia* L. *International Journal on Pharmaceutical and Biomedical Research (IJPBR)*. 2(1) : 17-20.
- Sundari I. 2010. *Identifikasi Senyawa dalam Ekstrak Etanol Biji Buah Merah (Pandanus conoideus Lamk.)*. FMIPA Universitas Sebelas Maret. (Skripsi).
- Vadivu R, Suresh AJ, Girinath K, Kannan PB, Vimala R, Kumar NMS. 2009. Evaluation of Hepatoprotective and In-vitro Cytotoxic Activity of Leaves of *Premna serratifolia* Linn. *Journal of Scientific Research*. 1 (1) : 145-152.

Wagner H, dan Blatt S. 1996. *Plant Drug Analysis A Thin Layer Chromatography Atlas*. Edisi Kedua. Springer.Jerman.

Warrier PK, Nambiar VP, Ramankutty C. 1995.*Indian Medicinal Plants: A Compendium of 500 Species*. Orient Longman Publications. India.