



Aktivitas senyawa antioksidan *Scurrula ferruginea* (Jack) Dans dengan inang Kakao (*Theobroma cacao*)

Novia Mayang Pratama^{1*}, Salni¹, Hanifa Marisa¹

¹ Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya, Jalan Raya Palembang-Prabumulih KM 32 Ogan Ilir, Sumatera Selatan

*Corresponding author

E-mail address: noviamayangp@gmail.com (Novia Mayang Pratama).

Peer review under responsibility of Biology Department Sriwijaya University

Abstrak

Antioksidan adalah senyawa yang mampu menghambat radikal bebas yang dapat menyebabkan penyakit dalam tubuh dan dapat diisolasi dari tanaman. Benalu merupakan salah satu tanaman yang mengandung flavonoid, tanin, terpenoid dan alkaloid. *Scurrula ferruginea* (Jack) Dans dengan inang kakao (*Theobroma cacao*) diasumsikan memiliki senyawa antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan aktivitas antioksidan fraksi n-heksana, etil asetat dan metanol dari daun *Scurrula ferruginea*, untuk menentukan kelompok senyawa murni yang memiliki antioksidan dan untuk menentukan nilai IC50 dari senyawa antioksidan murni. Metode penelitian dimulai dengan persiapan sampel, ekstraksi, fraksinasi cair-cair, isolasi senyawa dengan kromatografi cair vakum dan kromatografi kolom dan uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH. Penelitian ini menunjukkan bahwa fraksi etil asetat memiliki aktivitas kuat dan diikuti oleh fraksi n-heksan, sedangkan fraksi metanol memiliki aktivitas lemah. Isolat antioksidan aktif dalam fraksi n-heksan adalah senyawa H1 dan H2.1 dengan senyawa terpenoid. Sedangkan dalam fraksi etil asetat menghasilkan satu senyawa aktif, E1.1. dengan kelas senyawa flavonoid. Hasil penentuan aktivitas antioksidan dengan metode DPPH menunjukkan nilai IC50 pada senyawa H1, H2.1 dan E1.1. masing-masing 127,46; 129,28 dan 92,3 ppm. Senyawa H1 dan H2.1. memiliki aktivitas antioksidan sedang dan senyawa E1.1 memiliki aktivitas antioksidan yang kuat.

Kata kunci: antioksidan, *Scurrula ferruginea* (Jack) Dans, kakao, ekstraksi, fraksinasi, DPPH, terpenoid, flavonoid

Abstract

Antioxidant is a compound that is able to inhibit free radicals that can cause disease in the body and can be isolated from plants. Mistletoe contain flavonoids, tannins, terpenoids and alkaloids. *Scurrula ferruginea* (Jack) Dans with cacao hosts (*Theobroma cacao*) are assumed to have antioxidant compounds. This study purpose to determine the antioxidant activity of the nhexane, ethyl acetate and methanol fractions from the *Scurrula ferruginea* mistletoe leaves, to determine the pure compound group that has antioxidant and to determine the IC50 values of the pure antioxidant compounds. The research method begins with sample preparation, extraction, liquid fractionation method, isolation of compounds by vacuum liquid chromatography and column chromatography and antioxidant activity tests using the DPPH method. This study shows that the ethyl acetate fraction has strong activity and is followed by the n-hexane fraction, while the methanol fraction has weak activity. The active antioxidant isolates in the n-hexane fraction are H1 and H2.1 isolates with terpenoid compounds. Whereas in the ethyl acetate fraction produces one active isolate, E1.1. with a class of flavonoid compounds. The results of determining antioxidant activity by DPPH method showed IC50 values on compounds H1, H2.1 and E1.1. respectively 127.46; 129.28 and 92.3 ppm. H1 and H2.1 compounds. has moderate antioxidant activity and compound E1.1 has strong antioxidant activity.

Keywords: antioxidant, *Scurrula ferruginea* (Jack) Dans, cacao, extraction, fractionation, DPPH, terpenoid, flavonoid Received:

Diterima 16 Februari 2021, Diterbitkan 16 Agustus 2021

1. Pendahuluan

Antioksidan merupakan senyawa yang diperlukan oleh tubuh untuk menangkal radikal bebas yang berlebihan dengan cara menghambat reaksi oksidasi yang terjadi (Kurniasih *et al.*, 2015). Radikal bebas bersifat sangat reaktif dan dapat menyebabkan stres oksidatif. Keadaan ini dapat memicu terjadinya kerusakan di dalam tubuh

mulai dari tingkat sel. Menurut Khaira (2010), radikal bebas merupakan molekul kimia yang sangat reaktif dan menjadi penyebab dari penuaan dini dan penyakit-penyakit seperti kanker, penyempitan pembuluh darah, penyakit gangguan paru-paru, hati, ginjal, katarak, rematik dan diabetes.

Benalu merupakan tumbuhan yang tergolong hem-

iparasit dimana sifat merugikannya ini menyebabkan benalu sering dibasmi masyarakat karena dianggap antiosidan baru dengan cara mengisolasi senyawa akif dan ditentukan akivitasnya yang terlihat pada nilai IC50. Karena menurut Onay (2006), bahwa kandungan senyawa antioksidan pada benalu dapat dipengaruhi mengganggu tanaman komersial. Namun dalam pengobatan tradisional dapat dimanfaatkan sebagai penurun tekanan darah, obat batuk, diabetes, panas diuretik, cacar, maag dan infeksi kulit (Ameer et al., 2010 dan Artanti et al., 2012).

Benalu dapat mengandung senyawa metabolit sekunder berupa senyawa fenolik, flavonoid, tanin, alkaloid dan terpenoid (Lim et al., 2016). *Scurrula ferruginea* merupakan salah satu jenis benalu berasal dari famili Loranthaceae yaitu spesies sudah mulai diperbincangkan sebagai sumber baru bahan baku obat.

Penelitian Ameer et al. (2010), membuktikan bahwa ekstrak metanol benalu *Scurrula ferruginea* dapat menurunkan tekanan darah hipertensi, kanker. Fraksi etil asetatnya mengandung senyawa flavonol jenis kuersetin, kuersitrin, dan glikosida 4-O asetilkuersitrin (Devehat et al., 2002). oleh jenis tumbuhan inang. Le et al. (2014), menegaskan bahwa tumbuhan inang yang berbeda secara intrinsik memberikan sumber daya yang berbeda untuk fisiologi benalu.

Marvibaigi et al. (2014), menyimpulkan bahwa ekstrak aseton *Scurrula ferruginea* memiliki aktivitas antioksidan. Salah satu inang benalu adalah tumbuhan kakao (*Theobroma cacao* L.). Menurut Osman et al. (2004) dan Supriyanto et al. (2014), kakao memproduksi senyawa antioksidan yang bagus yaitu hampir sama dengan dengan teh hijau dan aktivitas antioksidan senyawa pada *Scurrula ferruginea* yang hidup menumpang pada tanaman kakao dapat dijadikan sebagai objek untuk mendapatkan senyawa daunya adalah 20,31-36,86%.

Tujuan penelitian ini adalah mengetahui aktivitas antioksidan fraksi nheksan, etil asetat dan metanol air dari daun benalu *Scurrula ferruginea* kakao, mengetahui golongan senyawa murni yang mempunyai aktivitas antioksidan dari fraksi aktif yang didapatkan dan menentukan nilai IC50 senyawa murni antioksidan dari daun benalu *Scurrula ferruginea* kakao.

2. METODE PENELITIAN

2.1. Waktu dan Tempat

Penelitian dilaksanakan pada bulan Oktober 2019 sampai dengan Maret 2020. Pengambilan sampel dilakukan di Muara Kecamatan Bukit Sundi Kabupaten Solok Provinsi Sumatera Barat. Studi fitokimia yang dilakukan bertempat di Laboratorium Genetika dan Bioteknologi Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya.

2.2. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah botol vial, beaker glass dengan berbagai ukuran, blender, buret, chamber, corong pisah, gelas ukur, gunting, hair dryer, hot plate, mikropipet, mikrotip, pensil, penggaris, pipet tetes, rotary evaporator, pengaduk kaca, pipa kapiler, plat KLT, spektrofotometer UV, timbangan dan vorteks. Bahan yang digunakan adalah aluminium foil, aquades, daun benalu asetat, metanol, kapas, kertas saring, label, silica gel, DPPH, larutan H₂SO₄ dan larutan DMSO.

2.3. METODE PENELITIAN

2.3.1. Preparasi sampel

Sampel yang digunakan adalah daun benalu *Scurrula ferruginea* dari segala umur (muda, dewasa dan tua) yang berkondisi bagus. Daun benalu *Scurrula ferruginea* diangin-anginkan hingga benar-benar kering. Daun yang sudah kering dihaluskan sampai diperoleh serbuk simplisia.

2.3.2. Ekstraksi

Metode ekstraksi menggunakan Metode maserasi. Serbuk simplisia daun *Scurrula ferruginea* sebanyak 300 gram direndam dengan 1500 mL metanol dan dibiarkan selama 2 hari sambil diaduk secara periodik. Setelah 2 x 24 jam dilakukan penyaringan ekstrak dari diuapkan dengan menggunakan (KCV). Kolom awalnya diisi dengan silika ampasnya sehingga diperoleh ekstrak metanol cair. Proses maserasi diulang sampai 3 kali. Hasil penyaringan yang diperoleh rotary evaporator sehingga diperoleh ekstrak kental. Menurut Dahlia dan Hasnawati (2014), rendemen ekstrak ekstrak kental metanol dapat dihitung dengan rumus:

$$\text{Rendemen ekstrak (\%)} = \frac{\text{massa ekstrak}}{\text{massa simplisia}} \times 100\%$$

2.3.3. Fraksinasi Cair-Cair

Fraksinasi dilakukan menggunakan pelarut n-heksana, etilasetat, dan metanol air. Ekstrak kental metanol dilarutkan dalam methanol dan air dengan perbandingan 1:1 sebanyak 250 mL lalu dimasukkan ke dalam corong pisah dengan kran tertutup. Lalu pelarut n-heksan ditambahkan ke dalam larutan ekstrak, dikocok sampai homogen dan dicuci bersih dengan air kemudian Hasil yang diperoleh kemudian digunakan adanya bercak kuning yang timbul pada plat sebagai sampel penelitian (Dini dan Darminto, 2012). Intensitas warna (Dahlia dan Hasnawati, 2014). Kemudian kuning yang dihasilkan setelah penyemprotan larutan DPPH disesuaikan dengan standar kekuatan intensitas bercak oleh James et al. (2009), bahwa intensitas warna kuning yang kuat diberi tanda (+++), intensitas sedang diberi tanda (++) , intensitas

lemah diberi tanda (+) dan tidak ada warna kuning diberi tanda (-).

2.3.4. Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi dengan Larutan DPPH

Aktivitas antioksidan ketiga fraksi kental (n-heksan, etil asetat dan metanol) di analisis dengan menggunakan KLT. Ketiga fraksi kental ditotolkan pada plat KLT dan dielusi dengan eluen tertentu. Kemudian plat KLT disemprot dengan larutan DPPH. Fraksi aktif antioksidan akan menunjukkan gel yang dipadatkan hingga memenuhi kolom sampai 3 cm. Fraksi kental sebelumnya dicampur dengan silika gel hingga fraksi membentuk serbuk, kemudian dimasukkan kedalam kolom di atas silika serta ditutup dengan kertas saring. Pemisahan dilakukan menggunakan fase gerak gradien tertentu.

Masing-masing subfraksi yang didapatkan dipekatkan kembali hingga kental dengan rotary evaporator dan dilakukan uji aktivitas antioksidan dengan di semprot dengan larutan DPPH. Subfraksi aktif ditunjukkan dengan adanya bercak kekuningan pada plat. Subfraksi aktif yang masih mengandung senyawa campuran dipisahkan kembali dengan kromatografi kolom (Werdyani et al., 2019).

2.3.5. Kromatografi Cair Vakum dan Uji Aktivitas Antioksidan Subfraksi

Fraksi kental yang didapat dipisahkan menggunakan kromatografi cair vakum didiamkan hingga terbentuk dua lapisan. Fraksi n-heksan pada lapisan paling atas dipisahkan dari fraksi metanol air dengan membuka kran corong pisah dan ditampung dalam botol, kemudian diulangi sampai larutan bewarna bening. Fraksinasi dilanjutkan dengan pelarut etil asetat dengan perlakuan yang sama dengan n-heksan. Fraksi n-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi methanol kemudian diuapkan dan dikentalkan menggunakan Rotary evaporator. Sehingga diperoleh tiga fraksi kental (Salni et al., 2011).

2.3.6. Kromatografi Kolom

Subfraksi aktif yang masih mengandung campuran beberapa senyawa dipisahkan dengan kromatograf kolom sampai ditemukan senyawa dengan bercak tunggal pada plat KLT. Pada pemisahan dengan kromatografi kolom, silika gel disuspensikan terlebih dahulu dengan eluen 50 ml yang telah ditentukan dan dimasukkan ke dalam kolom yang dasarnya telah disumbat kapas. Kolom dimampatkan secara perlahan sehingga diperoleh kerapatan kolom yang seragam. Subfraksi kental yang aktif dimasukan ke dalam kolom dan dielusi dengan menggunakan metode gradien atau penggunaan pelarut dengan perbandingan bertingkat. Eluat yang keluar kemudian ditampung ke dalam botol

vial dan dilakukan uji aktivitas antioksidan dengan menyemprotkan larutan DPPH pada plat KLT yang mengandung eluat yang akan diuji (Wati *et al.*, 2017). Eluat aktif yang masih mengandung campuran akan dipisahkan kembali dengan kromatografi kolom hingga ditemukan senyawa dengan bercak tunggal.

2.3.7. Penentuan Golongan Senyawa Akif

Senyawa dengan noda tunggal dan memiliki aktivitas antioksidan ditotolkan pada plat KLT dan dielusi kembali dengan perbandingan pelarut tertentu di dalam *chamber*. Plat kemudian di semprot dengan H₂SO₄ 10% dan dikeringkan diatas *hot plate* sehingga terbentuklah bercak warna tertentu. Golongan senyawa yang ada ditentukan berdasarkan warna bercak yang terbentuk (Salni, 2011), kemudian dihitung nilai *Retention factor* dari bercak yang timbul dengan rumus :

$$R_f = \frac{\text{jarak yang ditempuh senyawa}}{\text{jarak yang ditempuh pelarut}}$$

2.3.8. Uji Antioksidan Senyawa Aktif dengan Metode DPPH

Senyawa yang aktif diuji aktivitas antioksidannya dengan metode DPPH. Larutan DPPH dibuat 0,1 mM dengan melarutkan 3,94 mg DPPH di dalam 100 ml metanol. Senyawa aktif yang akan diuji dibuat larutan induknya sebanyak 2000 ppm dengan melarutkan 8 mg sampel di dalam 4 ml DMSO. Kemudian larutan sampel dibuat variasi konsentrasi menjadi 1000, 500, 250, 125 dan 62.5 ppm. Pengukuran daya antioksidan senyawa aktif dilakukan dengan memipet 2 ml larutan sampel senyawa aktif dari berbagai konsentrasi (1000, 500, 250, 125 dan 62.5 ppm) lalu masing-masing ditambahkan dengan 2 ml larutan DPPH 0,1 mM. Campuran larutan ini dihomogenkan dengan menggunakan vorteks dan dibiarkan di tempat gelap pada suhu kamar selama 30 menit (Hasanah *et al.*, 2017). Kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimumnya. Hasil penetapan antioksidan dibandingkan dengan vitamin C sebagai larutan pembanding yang telah diberikan perlakuan yang sama dengan sampel uji. Menurut Marvibaigi *et al.* (2014), besarnya daya antioksidan dihitung dengan rumus :

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

2.4. Analisis Data Aktivitas Antioksidan

Penelitian ini dianalisis dengan menentukan nilai inhibisi radikal DPPH dilanjutkan dengan menentukan nilai IC₅₀. Menurut Sulaeha *et al.* (2017), nilai IC₅₀ di-

peroleh dengan membuat persamaan garis yang menghubungkan antara log konsentrasi larutan uji masing-masing sampel (1000, 500, 250, 125 dan 62.5 ppm) dan larutan perbandingan dengan nilai probit. IC_{50} diperoleh dengan menghitung konsentrasi larutan uji yang bisa menghasilkan hambatan radikal bebas (% inhibisi) sebesar 50 berdasarkan persamaan garis regresi linear menggunakan persamaan $y = ax + b$. Dimana $y = 50$, a adalah koefisien variabel x , x adalah variabel bebas dan b adalah konstanta.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1. Ekstraksi Daun Benalu *Scurrula ferruginea*

Ekstraksi daun benalu *Scurrula ferruginea* menghasilkan maserat berupa cairan berwarna coklat gelap. Nilai rendemen ekstrak terlihat pada Tabel 4.1. berikut ini:

Tabel 1. Berat ekstrak dan nilai rendemen ekstrak daun benalu *Scurrula ferruginea* Jack (Dans)

Berat Simplisia (gram)	Berat Ekstrak (gram)	Rendemen Ekstrak (%)
300	7	2,33

Berdasarkan Tabel 1. menunjukkan bahwa senyawa kimia yang dapat ditarik selama proses maserasi dengan tiga kali perendaman adalah sebesar 2,33 % dari total berat simplisia. Angka ini menunjukkan banyaknya kandungan senyawa yang dapat larut pada pelarut metanol yang bersifat polar. Menurut Rusli *et al.* (2015), pelarut polar dapat melarutkan senyawa kimia yang bersifat polar, semipolar dan non polar yang berada di dalam simplisia.

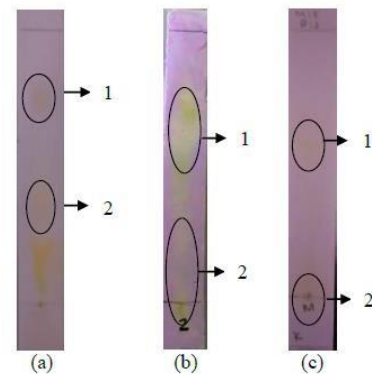
Ekstrak yang berisi senyawa pada tumbuhan dapat tertarik keluar jaringan tumbuhan karena adanya perbedaan kondisi antara di dalam dan di luar sel. Menurut Wati *et al.* (2017), perendaman sampel tumbuhan dengan pelarut akan mengakibatkan pemecahan dinding dan membran sel akibat perbedaan tekanan antara di dalam dan di luar sel, sehingga metabolit sekunder yang berada di dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut.

3.2. Fraksinasi dan Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Daun Benalu *Scurrula ferruginea*

Proses FCC ini menghasilkan tiga jenis fraksi yaitu fraksi n-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi metanol. Fraksi n-heksan berwarna kekuningan, fraksi etil asetat berwarna hijau kehitaman dan fraksi metanol berwarna coklat.

Hasil uji aktivitas antioksidan ketiga fraksi

kental daun benalu *Scurrula ferruginea* dengan larutan DPPH terlihat pada Gambar 1. berikut ini:



Gambar 1. Hasil uji aktivitas antioksidan fraksi daun benalu *Scurrula ferruginea* 1(a) bercak kuning pada fraksi n-Heksan, 1,2(b) bercak kuning pada fraksi Etil Asetat; 1,2(c) Fraksi metanol tidak menunjukkan bercak kuning

Berdasarkan Gambar 1. diatas dapat diketahui bahwa diantara ketiga fraksi daun benalu *Scurrula ferruginea* hasil fraksinasi terdapat dua fraksi yang memiliki aktivitas antioksidan yang lebih kuat secara berturut-turut yaitu fraksi etil asetat dan fraksi nheksan. Hal ini terjadi karena fraksi aktif ini memiliki kemampuan untuk mengubah larutan DPPH menjadi kekuningan. Menurut Dini dan Darminto (2012), fraksi yang membentuk bercak kuning merupakan fraksi yang menunjukkan adanya aktivitas antioksidan.

Fraksi etil asetat memiliki bercak kuning yang lebih kuat dibandingkan dengan fraksi n-heksan. Hal ini diduga karena pelarut etil asetat dapat melarutkan senyawa fenolik yang potensial sebagai antioksidan. Menurut Rondonuwu *et al.* (2017), menunjukkan bahwa fraksi etil asetat yang bersifat semi polar baik dalam mengekstrak senyawa fenolik sehingga mempunyai kandungan total fenolik tinggi dan aktivitas antioksidan yang tinggi.

Tabel 2. Nilai Rf dan Aktivitas dari Fraksi Daun Benalu *Scurrula ferruginea*

Fraksi	Nilai Rf	Keterangan
n-Heksan	1. 0,85	1. +++
	2. 0,54	2. +
Etil Asetat	1. 0,78	1. ++
	2. 0,34	2. +
Metanol	1.0,56	1. +
	2.0,13	2. +

Keterangan : (+++) : kuat, (++) : sedang, (+) : lemah dan (-) : tidak ada bercak (James *et al.*, 2009)

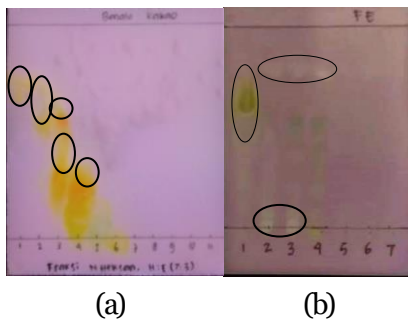
Berdasarkan Tabel 2. pada fraksi nheksan terlihat dua noda yang memiliki bercak kuning dengan nilai Rf berturut-turut 0,85 dan 0,54 dimana senyawa pertama lebih kuat dibandingkan senyawa kedua. Fraksi etil asetat lebih

kuat aktivitasnya pada senyawa dengan nilai Rf 0,78 sedangkan noda pada fraksi metanol tidak menunjukkan bercak kuning yang begitu jelas ketika disemprot dengan DPPH.

Perbedaan nilai Rf terjadi karena adanya perbedaan kepolaran senyawa yang dielusi menggunakan perbandingan pelarut tertentu. Adanya perbedaan nilai Rf ini dapat menggambarkan karakteristik dari senyawa aktif yang akan diisolasi. Menurut Asra *et al.* (2019), senyawa yang memiliki nilai Rf yang lebih besar, berarti mempunyai kepolaran yang lebih rendah, dikarenakan fase diam bersifat polar. Senyawa yang lebih polar akan tertahan kuat pada fase diam, sehingga membentuk nilai Rf yang rendah.

3.3. Kromatografi Cair Vakum (KCV) Fraksi Aktif Daun Benalu *Scurrula ferruginea* (Jack) Dans

Hasil pemisahan senyawa pada fraksi aktif n-heksan dan etil asetat terlihat pada gambar dibawah ini:



Gambar 2. Hasil uji aktivitas antioksidan sub fraksi aktif daun benalu *Scurrula ferruginea* dengan DPPH, (a) subfraksi n heksan (b) subfraksi etil asetat

Nilai Rf dan aktivitas subfraksi nheksan dan etil asetat terlihat pada tabel berikut:

Tabel 3. Nilai Rf dan Aktivitas Antioksidan Subfraksi n-Heksan Daun Benalu *Scurrula ferruginea*

Fraksi	Sub Fraksi	Nilai Rf	Aktivitas
n-heksan	1	0,85	++
	2	0,77	++
	3	0,65 dan 0,49 0,36	+ dan +
	4		+
Etil asetat	1	0,75	+++
	2	0,77 dan 0,08	++ dan +
	3	0,77 dan 0,08	++ dan +
	4	0,77 dan 0,08	++ dan -

Keterangan : (+++) : kuat, (++) : sedang, (+) : lemah dan (-) : tidak ada bercak (James *et al.*, 2009)

Terlihat pada Gambar 2(a) diatas bahwa terdapat 11 subfraksi dari fraksi aktif n-heksan yang didapat dari tahapan kromatografi cair vakum yang kemudian disebut subfraksi H1-H11. Terdapat 4 subfraksi aktif yang

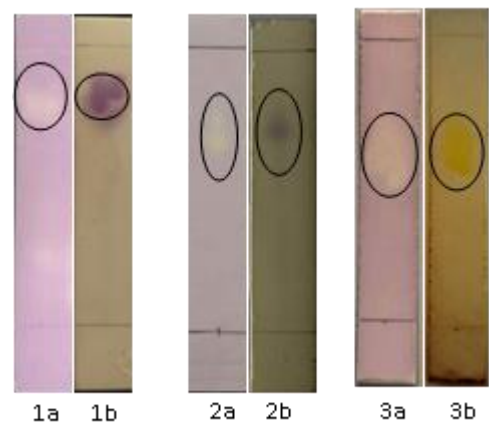
menunjukkan bercak kuning ketika disemprotkan dengan larutan DPPH yaitu subfraksi H1, H2, H3 dan H4. Gambar 2(b) menunjukkan adanya pemisahan senyawa fraksi etil asetat menjadi 7 subfraksi yang disebut E1-E7. 4 subfraksi diantaranya terdeteksi memiliki aktivitas antioksidan seperti yang ditandai dengan lingkaran hitam.

Bercak kuning yang ditimbulkan setelah penyemprotan DPPH menunjukkan bahwa kedua fraksi ini mengandung senyawa-senyawa yang berpotensi sebagai antioksidan. Menurut Yulian dan Safrijal (2018), adanya interaksi antioksidan dengan DPPH akan menetralkan karakter radikal bebas dari DPPH. Jika semua elektron pada pada radikal bebas DPPH menjadi berpasangan maka warna larutan berubah dari ungu tua menjadi kuning terang.

Menurut Marcelinda *et al.* (2016), nheksan dapat melarutkan senyawa dengan kepolaran yang rendah, diantaranya golongan terpenoid dan alkaloid dan berpotensi sebagai antioksidan. Sedangkan etil asetat dapat melarutkan senyawa-senyawa yang berpotensi sebagai antioksidan seperti golongan fenolik. Sesuai dengan penelitian Sembiring *et al.* (2016), menyatakan bahwa pelarut etil asetat dapat menarik senyawa fenolik seperti flavonoid, tanin serta golongan terpenoid dan saponin yang dapat berpotensi sebagai antioksidan.

3.4. Isolasi Senyawa Subftaksi Aktif nHeksan dan Etil Asetat Daun Benalu *Scurrula ferruginea* dan Uji Aktivitas Antioksidannya

Hasil isolasi senyawa aktif antioksidan subfraksi aktif n-heksan dan etil asetat daun benalu *Scurrula ferruginea* diperoleh senyawa H1 dan H2.1. dan E1.1. Hasil uji aktivitas anioksidan senyawa murni secara kualitatif dan penggolongan senyawa terlihat pada gambar berikut:



Gambar 3. Profil kromatogram senyawa murni, senyawa H1 (1), senyawa H2.1 (2), senyawa E1.1 (3), setelah disemprot DPPH 0,2%, (a), setelah disemprot H₂SO₄ 10% (b)

Karakteristik dari masing-masing senyawa terlihat pada tabel berikut:

Tabel 4. Karakteristik Senyawa Murni Senyawa H1, H2.1 dan E1.1

Senyawa	Nilai Rf	Warna bercak	Golongan senyawa
H1	0,84	Ungu	Terpenoid
H2.1	0,75	Biru	Terpenoid
E1.1	0,71	Kuning	Flavonoid

Golongan senyawa senyawa H1 dan H2.1 adalah terpenoid atau steroid. Senyawa ini akan berwarna ungu atau biru gelap ketika disemprot dengan larutan H₂SO₄ 10%. Menurut Saifudin (2014), identifikasi terpenoid menggunakan larutan asam sulfat menghasilkan warna ungu, biru atau kuning. Sesuai dengan penelitian Ameer *et al.* (2010), bahwa pada ekstrak metanol tumbuhan benalu *Scurrula ferruginea* mengandung senyawa terpenoid.

Senyawa terpenoid dalam studi fitokimia memiliki aktivitas antioksidan karena mampu mendonorkan hidrogen pada radikal bebas DPPH sehingga menghambat reaksi oksidasi pada molekul biologis di dalam tubuh. Menurut Rusli *et al.* (2015), terpenoid terbukti mempunyai potensi aktivitas antioksidan dan efek yang positif melawan stress oksidatif di dalam mitokondria. Penelitian tentang isolasi senyawa antioksidan pada fungi endofit tumbuhan jeruju oleh Rahmaniah *et al.* (2019), menyebutkan bahwa senyawa terpenoid memiliki aktivitas antioksidan yang kuat.

Senyawa E1.1. termasuk kedalam golongan senyawa flavonoid dan memiliki nilai Rf sebesar 0,71. Flavonoid menunjukkan warna kuning ketika diuji dengan H₂SO₄. Menurut Lisi (2017), senyawa flavonoid diidentifikasi menggunakan H₂SO₄ membentuk warna kuning, merah atau coklat yang sangat mencolok. Senyawa ini termasuk kedalam senyawa polifenol dan memiliki kemampuan sebagai peredam radikal bebas. Menurut Devehat *et al.* (2002) senyawa jenis flavonoid merupakan salah satu senyawa yang telah diisolasi pada fraksi etil asetat dari ekstrak aseton air metanol benalu *Scurrula ferruginea*. Menurut Marvibaigi *et al.* (2014) dan Ali *et al.* (2013), pada ekstrak etanol dan metanol daun spesies benalu dari genus *Scurrula* memiliki senyawa fenolik yang berpotensi sebagai antioksidan.

3.7. Aktivitas Antioksidan Senyawa Akif Daun Benalu *Scurrula ferruginea*

Berdasarkan tabel diatas menunjukkan bahwa senyawa H1 dan H2.1 memiliki aktivitas antioksidan sedang dengan nilai IC₅₀ berurut-turut 127,46 dan 129,28 ppm. senyawa E1.1 memiliki aktivitas antioksidan kuat dengan nilai IC₅₀ 92,3 ppm. Sedangkan asam askorbat sebagai larutan pembanding antioksidan memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat dengan nilai IC₅₀ sebesar 0,61 ppm.

Uji aktivitas antioksidan senyawa murni aktif

dengan metode DPPH menggunakan alat spektrofotometer UV terlihat pada tabel Nilai IC₅₀ berikut:

Tabel 5. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Senyawa H1, H2.1, E.1.1 dan Asam askorbat dengan Metode DPPH

Sampel	Nilai IC ₅₀ (ppm)	Aktivitas
H1	127,46	Sedang
H2.1.	129,28	Sedang
E1.1.	92,3	Kuat
Asam askorbat	0,61	Sangat kuat

Senyawa H1 dan H2.1 mengandung senyawa terpenoid yang mampu mendonorkan hidrogen pada radikal bebas DPPH sehingga menghambat reaksi oksidasi pada molekul biologis di dalam tubuh. Menurut Rusli *et al.* (2015), terpenoid terbukti mempunyai potensi aktivitas antioksidan dan efek yang positif melawan stress oksidatif di dalam mitokondria. Nilai IC₅₀ < 50 ppm menunjukkan sangat kuat, 51-100 ppm kuat, 101-250 ppm sedang, 251 – 500 ppm lemah, dan > 500 ppm tidak aktif (Molyneux 2004)

Senyawa E1.1 yang mengandung senyawa flavonoid yang merupakan senyawa golongan fenolik yang mempunyai gugus hidroksil sehingga sangat berpotensi sebagai sumber antioksidan. Senyawa flavonoid dapat berperan dalam mengatasi penyakit yang disebabkan oleh radikal bebas dengan mekanisme antioksidan. Menurut Bagchi *et al.* (2003), flavonoid membantu menurunkan kadar kolesterol plasma, menghambat oksidasi LDL, dan mengaktifkan sintase nitrat oksida endotel untuk mencegah adhesi dan agregasi platelet yang berkontribusi pada pembentukan bekuan darah.

4. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat diambil kesimpulan sebagai berikut.

1. Fraksi n-heksan daun benalu *Scurrula ferruginea* memiliki aktivitas antioksidan yang sedang dengan nilai Rf 0,85 dan fraksi Etil Asetat memiliki aktivitas antioksidan kuat pada nilai Rf 0,78. Fraksi metanol memiliki aktivitas yang lemah berdasarkan intensitas warna bercak kuning pada plat KLT
2. Senyawa yang mempunyai aktivitas antioksidan dari fraksi n-heksan daun benalu *Scurrula ferruginea* adalah H1 dan H2.1 yang merupakan senyawa terpenoid dan pada fraksi etil asetat adalah E1.1 yang merupakan senyawa flavonoid
3. Senyawa H1 dan H2.1 memiliki nilai IC₅₀ 127,46 dan 129,28 ppm dengan aktivitas antioksidan sedang.

Senyawa E1.1 memiliki nilai IC₅₀ 92,3 ppm dengan aktivitas antioksidan kuat.

REFERENSI

- Ali, M.A., Chanu, K.H.V. dan Devi, L.I. 2013. *Scurrula parasitica* L.: A Medicinal Plant with High Antioxidant Activity. *Int. Jurnal. Pharm. Pharm. Sci.* 5: 5–8.
- Ameer, O.Z., Siddiqui, M. J. dan Salman, I.M., 2010. Cardiovascular Activity of the n-butanol Fraction of Methanolic Extract of *Loranthus ferrugineus* Roxb.. *Brazilian Jurnal of Medical and Biological Research*. 43(2): 185-194.
- Artanti, N., Firmansyah, T. dan Darmawan, A. 2012. Bioactivities Evaluation of Indonesian Mistletoes (*Dendrophthoe pentandra* (L.) Miq.) Leaves Extracts. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 2(1): 24-27.
- Asra, R., Azni, N. R., Rusdi dan Nessa. 2019. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Fraksi Heksan, Fraksi Etil Asetat dan Fraksi Air Daun Kapulaga (*Elettaria cardamomum* (L.) Maton). *Journal of Pharmaceutical and Sciences*. 2(1): 30-37.
- Bagchi, D.B., Sen, C.K., Ray, S.D., Das, D.K., Bagchi, M., Preuss, H.G. dan Vinson, J.A., 2003. Molecular Mechanisms Of Cardioprotection By A Novel Grape Seed Proanthocyanidin Extract. *Mutation Research*. 523, 87-97.
- Dahlia, A.A. dan Hasnawati. 2014. Isolasi dan Identifikasi Golongan Kimia Aktif Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Jambu Mete (*Anacardium occidentale* L.). *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*. 1(1): 24-30.
- Devehat, F.L.L., Tomasi, S., Fontanel, D. dan Boustie, J. 2002. Flavonols from *Scurrula ferruginea* Danser (*Loranthaceae*). *Jurnal Z Naturforsch*. 57: 1092-1095.
- Dini, I. dan Darminto. 2012. Metode Isolasi Senyawa Bioaktif pada Tumbuhan Paliasa (*Kleinhovia hospita* Linn.). *Jurnal Chemica*. 13(2) : 11 -16.
- Hasanah, M., Maharani, B. dan Munarsih, E. 2017. Daya Antioksidan Ekstrak dan Fraksi Daun Kopi Robusta (*Coffea Robusta*) Terhadap Pelebaran DPPH (2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil). *Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi Indonesia*. 4(2): 42-9.
- James, O., Nnacheta, O. P. dan Okpara, M. 2009. Cytotoxicity and Antioxidant Screening of Some Selected Nigerian Medical Plants. *Asian Jurnal of Pharmaceutical and Clinical Research*. 2(4): 48-53.
- Khaira, K. 2010. Menangkal Radikal Bebas dengan Antioksidan. *Jurnal Saintek*. 2(2): 183-187.
- Kurniasih, N., Kuusmiyati, M., Sari, R. P. dan Wafdan, R. 2015. Potensi Daun Sirsak (*Annona muricata* Linn), Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten) Steenis), Dan Daun Benalu Mangga (*Dendrophthoe pentandra*) Sebagai Antioksidan Pencegah Kanker. *Jurnal Sains dan Teknologi*. 9(1): 162-184.
- Le, Q. V., Tennakoon, K. U., Metali, F., Lim, L. B. M. dan Bolin, J. F. 2014. Ecophysiological Responses of Mistletoe *Dendrophthoe curvata* (*Lorentaceae*) to Varying Environmental Parameter. *Jurnal of Tropical Florest Science*. 28(1): 5967.
- Lim, Y.C, Rajabalaya, R., Lee, S.H.F., Tennakon, K.U., Le, Q.V., Idris, A., Zulkipli, I.N., Keasberry, N. dan David, S.R. 2016. Parasitic Mistletoes of the Genera *Scurrula* and *Viscum*: From Bench to Bedside. *Molecules*. 21(8) : 1-6.
- Lisi, A. K. F., Runtuwene, M. R. J. dan Wewengkang, D. S. 2017. Uji Fitokimia Dan Aktivitas Antioksidan Dari Ekstrak Metanol Bunga Soyogik (*Saurauia bracteosa* DC.). *Jurnal ILMIAH Farmasi Unsrat*. 6(1): 53-61.
- Marcelinda, A., Ridhay,A. dan Prismawiryanti. 2016. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Limbah Kulit Ari Biji Kopi (*Coffea* sp) Berdasarkan Tingkat Kepolaran Pelarut. *Online Jurnal of Natural Science*. 5(1) : 21- 30.
- Molyneux, P. 2004. The Use of the Stable Free Radical Diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*. 26(2): 211219.
- Marvibaigi, M., Amini, N., Supriyanto, E. dan Jamil, S. 2014. Total Phenolic Content, Antioxidant and Antibacterial Properties of *Scurrula ferruginea* Extracts. *Jurnal Teknologi*. 70(5) : 1-8.
- OnayUçar, E., Karagoz, A. dan Arda, N. 2006. Antioxidant Activity Of *Viscum album* ssp. *Album*. *Jurnal elvesier Fitoterapia*. 77 (2006) 556– 560.
- Osman H., Nasarudin R., dan S.L. Lee 2004. Extracts of cocoa (*Theobroma cacao*.L) leaves and their anti-oxidation potential. *Journal Food Chemistry*. 86(1): 41-46.
- Rahmaniah, A., Salni, dan Widjajanti, H. 2019. Anti-

- oxidant Activity of The Secondary Metabolites Produced by Endophytic Fungi Isolated from Jeruju (*Acanthus ilicifolius* L.) plant. *Biological Research Journal*. 5(2): 14-19.
- Rondonuwu, S. D. J., Suryanto, E. dan Sudewi, S. 2017. Kandungan Total Fenolik dan Aktivitas Antioksi dan dari Fraksi Pelarut Sagu Baruk (*Arenga microcharpa*). *Jurnal Chem.Prog*. 10(1): 29-32.
- Rusli, R., Hardina, M. P., Muflihah, F., dan Rahmadani, A. 2015. Profil Kromatografi Senyawa Aktif Antioksidan dan Antibakteri Fraksi nHeksana Daun Libo (*Ficus variegata* Blume). *Jurnal. Trop. Pharm. Chem*. 3(2): 124-130.
- Saifudin, A. 2014. *Senyawa Alam Metabolit Sekunder*. Yogyakarta: Deepublish.
- Salni, Marisa, H. dan Mukti, R. W. 2011. Isolasi Senyawa Antibakteri Dari Daun Jengkol (*Pithecolobiumlobatum* Benth) dan Penentuan Nilai KHMnya. *Jurnal Penelitian Sains*. 14(1): 38-41.
- Sembiring, H.B., Leny, S. dan Marpaung, L. 2016. Aktivitas Antioksidan Senyawa Flavonoida Dari Daun Benalu Kakao (*Dendrophthoe pentandra* (L.) Miq.). *Chimica et Natura Acta*. 4(3): 117-122
- Sulaeha, S., Jura, M. R., dan Rahman, N. 2017. Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Biji Buah Merah (*Pandanus conodeus*) Asal Kabupaten Poso Sulawesi Selatan. *Jurnal Akademika Kim*. 6(3): 170-174.
- Supriyanto, Darmadji, P. dan Susanti, I. 2014. Studi Pembuatan Teh Daun Tanaman Kakao (*Theobroma cacao* L) Sebagai Minuman Penyegar. *Jurnal Agritech*. 34(4): 422-429.
- Wati, M., Erwin, Tarigan, D. 2017. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder dari Fraksi Etil Asetat pada Daun Berwarna Merah Pucuk Merah (*Syzygium Myrtifilium* Walp). *Jurnal Kimia Mulawarman*. 14(2): 100-107.
- Werdyani, S., Hartati, D. S. dan Jumaryatno, P. 2019. Penentuan Fraksi Aktif Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Benalu (*Scurrula atropurpurea* (Bl.) Denser) yang Tumbuh pada Pohon Rambutan. *Jurnal Ilmiah Farmasi*. 15(2): 70-79.