

## Isolasi Senyawa Flavonoid yang Berpotensi sebagai Antioksidan pada Ekstraksi Bertingkat Daun Melinjo (*Gnetum gnemon* L.)

Isolation of Flavonoid Compound That Have the Potential as Antioxidants in Multilevel Extract of Melinjo Leaves (*Gnetum gnemon* L.)

<sup>1</sup>Sabrina Salsabila Utama, <sup>2</sup>Kiki Mulkiya, <sup>3</sup>Livia Syafnir

<sup>1,2,3</sup>Prodi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Bandung, Jl. Tamansari No.1 Bandung 40116

email: <sup>1</sup>sabrinautama@gmail.com, <sup>2</sup>qqmulkiya@gmail.com, <sup>3</sup>livia.syafnir@gmail.com

**Abstract.** Melinjo leaves (*Gnetum gnemon* L.) is one of the plants contain flavonoid compounds and potentially have antioxidant activity. This study aims to isolate flavonoid compounds that have the potential as antioxidants through multilevel extraction of melinjo leaves (*Gnetum gnemon* L.). Multilevel digestion extraction was performed using solvent with different polarity: n-hexane, ethyl acetate, and methanol. Extract was monitored by Thin-Layer Chromatography (TLC), using sitroborate to monitor flavonoids and DPPH to monitor antioxidants. Results indicated that melinjo leaves extracted using ethyl acetate showed flavonoid that performed better compared to those extracted using n-hexane and methanol. Ethyl acetate extract was then fractioned using vacuum liquid chromatography with gradient elution system, and subfraction was then monitored using TLC. Purification was performed towards fraction 5 by preparative TLC method, with chloroform : acetone (4:1) as mobile phase. Purity of isolates was tested using single developer and 2-dimensional TLC method. The results of the isolates were characterized using spectrophotometry UV-Visible showing the maximum wavelength at band I 466,50 nm and band II 280 nm. The result of the isolate was suspected to be flavonoid, which is anthocyanin group.

**Keywords:** Melinjo leaves (*Gnetum Gnemon* L.), Isolation, Flavonoids, Antioxidants.

**Abstrak.** Daun melinjo (*Gnetum gnemon* L.) merupakan salah satu tanaman yang mengandung senyawa flavonoid dan berpotensi memiliki aktivitas antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi senyawa flavonoid yang berpotensi sebagai antioksidan melalui ekstraksi bertingkat daun melinjo (*Gnetum gnemon* L.). Metode ekstraksi dilakukan secara digesti bertingkat menggunakan pelarut dengan kepolaran yang berbeda yaitu n-heksan, etil asetat, dan metanol. Pemantauan ekstrak menggunakan metode kromatografi lapis tipis (KLT) untuk memantau flavonoid menggunakan sitroborat dan antioksidan menggunakan DPPH. Ekstrak etil asetat daun melinjo menunjukkan terdapat senyawa flavonoid yang berpotensi memiliki aktivitas antioksidan lebih baik dari ekstrak n-heksan dan metanol. Ekstrak etil asetat difraksinasi menggunakan metode kromatografi cair vakum dengan sistem elusi landaian dan dilakukan pemantauan KLT pada subfraksi. Fraksi 5 dimurnikan secara KLT preparatif dengan fase gerak kloroform : aseton (4:1). Terhadap isolat dilakukan uji kemurnian dengan metode KLT pengembang tunggal dan KLT 2 dimensi. Hasil dari isolat dikarakterisasi menggunakan spektrofotometri UV-Sinar tampak menunjukkan panjang gelombang maksimal pada pita I 466,50 nm dan pita II 280 nm. Hasil isolat diduga flavonoid yaitu golongan antosianin.

**Kata Kunci:** Daun melinjo (*Gnetum Gnemon* L.), Isolasi, Flavonoid, Antioksidan.

### A. Pendahuluan

Pada saat ini diketahui Indonesia memiliki sekitar 1300 jenis tanaman yang berkhasiat obat. Pemanfaatan mengenai tanaman obat berasal dari resep turun-temurun yang diwariskan nenek moyang, mulai dari jenis tanaman, bagian digunakan, cara sampai dengan penyakit yang dapat disembuhkan (Sangat, dkk. 2000).

Tanaman melinjo (*Gnetum gnemon* L.) merupakan salah satu

tanaman yang telah dijadikan sebagai alternatif pengobatan tradisional (Sunanto, 1991: 17). Salah satu bagian tanaman yang dimanfaatkan sebagai obat tradisional adalah daun melinjo (*Gnetum gnemon* L.). Dalam pengobatan tradisional daun melinjo dijadikan obat dikarenakan memiliki beberapa khasiat yaitu untuk mengobati luka gigitan anjing, penyakit mata, anemia dan busung lapar. Selain itu, efek farmakologis lain yang sering

dimanfaatkan sebagai peluruh kencing (diuretik). Daun melinjo memiliki kandungan kimia di dalamnya seperti tanin, saponin dan flavonoid (Hariana, 2008: 117).

Flavonoid merupakan golongan terbesar senyawa fenol alam. Senyawa flavonoid merupakan sumber antioksidan alami yang biasanya terdapat di tanaman. Flavonoid merupakan salah satu senyawa yang didapat dari metabolisme pada tanaman dan memiliki aktivitas sebagai antioksidan (Mersy, dkk., 2017: 140).

Penelitian mengenai daun melinjo (*Gnetum gnemon* L.) yang mengandung senyawa flavonoid dilakukan oleh Mersy, dkk (2017: 140) menyebutkan bahwa kandungan flavonoid daun melinjo berasal dari Desa Lathuhalat sebesar 13,0803%, sedangkan yang berasal dari Desa Kayu Putih sebesar 17,0286%.

Dewi, dkk (2012: 75) meneliti bahwa daun melinjo menghasilkan fenol total sebesar 0,187 mg/ml pada suhu 60°C menggunakan pelarut air dan memiliki aktivitas antioksidan tertinggi yaitu 4,78% dibandingkan biji dan kulit buah melinjo.

Antioksidan diyakini memiliki peran penting dalam pencegahan dan pengobatan berbagai penyakit kronis, seperti penuaan dini, penurunan terkait usia dalam sistem kekebalan tubuh, penyakit kardiovaskular dan kanker (Santoso, 2014: 3).

Berdasarkan uraian diatas maka dapat dirumuskan permasalahannya yaitu bagaimana aktivitas antioksidan pada daun melinjo (*Gnetum gnemon* L.) yang di ekstraksi secara bertingkat dengan metode digesti dan bagaimana karakteristik senyawa flavonoid yang berpotensi sebagai antioksidan pada daun melinjo (*Gnetum gnemon* L.).

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengisolasi senyawa flavonoid yang dari daun melinjo yang diekstraksi

bertingkat serta mengetahui senyawa flavonoid yang berpotensi sebagai antioksidan pada daun melinjo (*Gnetum gnemon* L.) menggunakan metode DPPH. Manfaat dari penelitian ini diharapkan untuk memberikan informasi ilmiah tentang kandungan flavonoid pada daun melinjo yang memiliki potensi sebagai antioksidan.

## B. Landasan Teori

Melinjo (*Gnetum gnemon* L.) adalah habitus pohon ramping, tegak lurus, mulai dari bawah bercabang umumnya melingkar, tinggi pohon 5 - 22 m dan garis tengahnya 40 cm. Daun melinjo berbentuk bulat panjang hampir lonjong dengan ujung hampir meruncing dan panjang 7-22 cm (Backer, 1963: 95). Kandungan kimia melinjo, terutama pada buah dan daunnya mengandung saponin, flavonoid, dan tannin (Hariana, 2008: 117).

Flavonoid merupakan suatu kelompok senyawa fenol yang terbesar ditemukan di alam. Flavonoid mempunyai kerangka besar karbon yang terdiri dari 15 atom karbon, dimana 2 cincin benzene (C<sub>6</sub>) terikat pada satu rantai propane (C<sub>3</sub>) sehingga bentuk susunannya C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>. Flavonoid mampu membuat kompleks dengan ion-ion logam sehingga bertindak sebagai antioksidan (Yuslianti, 2018: 87).

Antioksidan adalah senyawa yang mempunyai struktur molekul yang dapat memberikan elektronnya kepada molekul radikal bebas tanpa terganggu sama sekali fungsinya. Antioksidan bekerja dengan mendonorkan atom hidrogen ke radikal hidroksil sehingga membentuk air dengan rumus yaitu  $H + OH = H_2O$  (Youngson, 2005: 18).

Ekstraksi adalah kegiatan penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut cair (Depkes RI, 2000: 1). Ekstraksi

bertingkat merupakan ekstraksi menggunakan pelarut organik secara bertingkat dilakukan menggunakan tiga pelarut dengan tingkat kepolaran yang berbeda-beda.

Fraksinasi adalah metode pemisahan campuran menjadi beberapa fraksi yang berbeda susunannya. Pelarut yang digunakan memiliki tingkat kepolaran yang berbeda sehingga digunakan untuk penarikan senyawa yang berbeda (Harborne, 1987: 7).

Kromatografi adalah suatu metode pemisahan fisik, di mana komponen-komponen yang dipisahkan didistribusikan antara dua fasa, salah satunya adalah suatu lapisan stasioner (fasa diam), yang lainnya adalah medium angkut yang terdiri dari satu atau beberapa pelarut (fasa gerak).

### C. Metodologi

Penelitian ini dilakukan melalui beberapa tahap meliputi pengumpulan bahan daun melinjo (*Gnetum gnemon* L.) segar yang diperoleh dari Kampung Rende Cikalong Kabupaten Purwakarta, yang selanjutnya bahan dilakukan determinasi di Herbarium Bandungense, Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati, Institut Teknologi Bandung.

Terhadap bahan segar dilakukan sortasi basah, pencucian, perajangan, kemudian pengeringan dengan cara diangin-anginkan hingga menjadi simplisia kering, kemudian dihaluskan hingga diperoleh serbuk simplisia.

Penelitian dilanjutkan dengan pemeriksaan makroskopik dan mikroskopik bahan segar dan serbuk simplisia. Kemudian dilakukan penapisan fitokimia terhadap simplisia dan ekstrak. Pemeriksaan parameter standar mutu simplisia meliputi parameter non spesifik dan parameter spesifik.

Dilakukan ekstraksi dengan metode digesti menggunakan pelarut

yang berbeda kepolarannya (n-heksan, etil asetat, metanol) dan dilakukan pemekatan ekstrak dengan *rotary vaccum evaporator*. Ekstrak kental dipantau KLT untuk mengidentifikasi senyawa flavonoid yang berpotensi memiliki aktivitas antioksidan.

Pada ekstrak terpilih dilakukan isolasi dengan metode Kromatografi Cair Vakum (KCV) untuk mendapatkan isolat dan dilakukan uji kemurnian menggunakan KLT preparatif. Isolat murni di karakterisasi dengan Spektrofotometri UV-Sinar tampak untuk mengidentifikasi senyawa flavonoid yang berpotensi sebagai antioksidan serta aktivitas antioksidannya.

### D. Hasil Penelitian dan Pembahasan

#### Determinasi Bahan

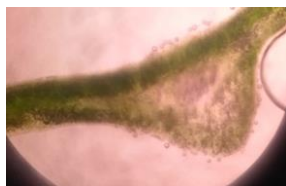
Determinasi bahan di Herbarium Bandungense, Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati, Institut Teknologi Bandung. Hasil dari determinasi bahan segar menyatakan bahan tanaman yang digunakan adalah *Gnetum gnemon* L., dengan nama umum melinjo (Indonesia).

#### Pemeriksaan Makroskopik

Pemeriksaan makroskopik pada daun melinjo (*Gnetum gnemon* L.) menunjukkan bahwa daun melinjo berwarna hijau tua dan mengkilap, serta memiliki bentuk bulat panjang hampir lonjong dengan ujung hampir meruncing, panjang daun berkisar 14-24 cm dengan lebar daun 6-10 cm.

#### Pemeriksaan Mikroskopik

Pemeriksaan mikroskopik sayat melintang daun melinjo (*Gnetum gnemon* L.) menunjukkan adanya jaringan epidermis atas, jaringan palisade, epidermis bawah, berkas pembuluh dan stomata. Pada simplisia daun melinjo menunjukkan adanya jaringan epidermis dengan stomata dan berkas pembuluh.



**Gambar 1.** Daun Segar Penampang Melintang (Reagen kloral hidrat)



**Gambar 2.** Daun Segar Irisan (Reagen Aquadest)



**Gambar 3.** Serbuk Simplisia (Reagen kloral hidrat)

### Penapisan Fitokimia

Penapisan fitokimia dilakukan sebagai tahap awal mengidentifikasi kandungan senyawa kimia yang terdapat dalam simplisia dan ekstrak. Dapat dilihat pada **tabel 1**.

**Tabel 1.** Hasil Penapisan Fitokimia

Golongan Senyawa	Simplisia	Ekstrak N heksan	Ekstrak Etil Asetat	Ekstrak Metanol
Alkaloid	+	+	+	+
Flavonoid	+	+	+	+
Saponin	-	-	-	-
Kuninon	-	-	-	-
Tannin	+	+	+	+
Polifenolat	+	+	+	+
Monoterpen dan Seskuiterpen	+	+	+	+
Steroid dan Triterpenoid	+	+	+	+

#### Keterangan:

(+)= Terdeteksi (-) = Tidak Terdeteksi

### Parameter Standar

Parameter standar yang ditetapkan pada penelitian ini meliputi penetapan parameter standar spesifik dan parameter non spesifik terhadap

simplisia daun melinjo. Penetapan standar dilakukan untuk menjamin standarisasi, keamanan dan kualitas suatu simplisia.

### Parameter Standar Spesifik

Parameter standar spesifik dilakukan untuk menjamin kebenaran bahan atau sebagai identitas suatu bahan. Pengamatan organoleptis dilakukan pada tanaman segar daun melinjo dengan menggunakan pancaindra untuk mendeskripsikan bentuk, rasa, warna, dan bau (Depkes RI, 2000: 31). Hasil pengamatan dapat dilihat pada **Tabel 2**.

**Tabel 2.** Hasil Pengamatan Organoleptis

Organoleptis	Tanaman
Bentuk	Bulat telur
Warna	Hijau Tua
Bau	Tidak berbau
Rasa	Tidak berasa

Pada penetapan parameter kadar sari larut air dilakukan untuk menetapkan jumlah kandungan senyawa polar yang didapat terlarut di dalam air. Dan parameter spesifik kadar sari larut etanol dilakukan untuk menetapkan jumlah kandungan senyawa non polar yang terlarut di dalam etanol (Depkes RI, 2000). Hasil parameter standar spesifik dapat dilihat pada **Tabel 3**.

**Tabel 3.** Hasil Parameter Standar Spesifik

No	Parameter Spesifik	Hasil (%)
1	Kadar Sari Larut Air	19,67
2	Kadar Sari Larut Etanol	12,86

### Parameter Standar Non Spesifik

Parameter standar non spesifik dilakukan untuk mengidentifikasi cemaran dalam simplisia. Hasil penetapan parameter non spesifik dapat dilihat pada **Tabel 4**.

**Tabel 4.** Hasil Parameter Non Spesifik

No	Parameter Non Spesifik	Hasil (%)
1	Kadar Air	5,49
2	Susut Pengerinan	6,34
3	Kadar Abu Total	6,41
4	Kadar Abu Tidak Larut Asam	0,29

Penetapan kadar air bertujuan untuk mengetahui kandungan air dalam simplisia, sehingga dapat diketahui kualitas dan waktu simpan simplisia. Hasil tersebut memenuhi persyaratan yang ditunjukkan pada litelatur dimana parameter kadar air tidak boleh melebihi 10% (Depkes RI, 2000).

Parameter susut pengeringan dilakukan untuk memberikan batasan maksimal besarnya senyawa yang hilang pada proses pengeringan. Hasil rata-rata persentase sebesar 6,34%. Hal ini menunjukkan selain air masih terdapat senyawa lain yang tertinggal didalam simplisianya sehingga hasil persentase susut pengeringan lebih besar dibandingkan penetapan kadar air

Penetapan kadar abu total dilakukan dengan tujuan menunjukkan adanya cemaran logam berat yang tahan pada suhu tinggi. Sedangkan kadar abu tidak larut asam dilakukan untuk melihat jumlah mineral dan kandungan senyawa anorganik simplisia yang didapat dari faktor eksternal.

Pada penetapan bobot jenis dilakukan untuk memberikan batasan tentang besarnya massa per volume yang merupakan parameter khusus ekstrak cair hingga kental yang masih dapat dituang dan memberikan gambaran kandungan kimia terlarut (Emilan, *dkk.*, 2011: 13). Hasil dari parameter bobot jenis dapat dilihat pada **Tabel 5.**

**Tabel 5.** Hasil Parameter Non Spesifik Bobot Jenis

Ekstrak	Bobot Jenis
Nheksan	1,02
Etil Asetat	1,04
Metanol	1,08

Bobot jenis dilakukan untuk memberikan batasan tentang besarnya massa per volume yang merupakan parameter khusus ekstrak cair hingga kental yang masih dapat dituang dan memberikan gambaran kandungan kimia terlarut (Emilan, *dkk.*, 2011: 13).

#### Ekstraksi

Proses ekstraksi yang dilakukan pada penelitian ini digunakan serbuk kering daun melinjo (*Gnetum gnemon* L.) sebanyak 300 mg. Metode ekstraksi bertingkat bertujuan agar mendapatkan ekstrak dengan kandungan senyawa yang sudah terpisah sesuai kepolarannya.

Metode digesti dipilih karena dilihat dari penelitian sebelumnya (Haryani, 2016) memperoleh jumlah aktivitas antioksidan yang tinggi dengan menggunakan pelarut organik.

Setelah didapatkan ekstrak kental kemudian dihitung hasil rendemen ekstrak n heksan, etil asetat dan metanol dengan hasil yang dapat dilihat pada **Tabel 6.**

**Tabel 6.** Tabel Rendemen Ekstrak

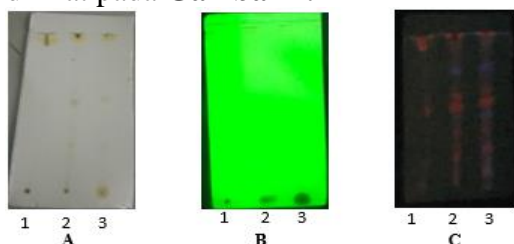
Ekstrak Kental	Rendemen (%)
Ekstrak N-heksan	1,43
Ekstrak Etil Asetat	1,47
Ekstrak Metanol	5,86

Pada hasil rendemen ekstrak tersebut diketahui bahwa daun melinjo memiliki jumlah rendemen ekstrak metanol lebih tinggi dibandingkan ekstrak lain. Hal ini menunjukkan kesesuaian dengan perolehan pengujian kadar sari, dimana kadar sari larut air (yang menunjukkan jumlah senyawa yang polar) lebih tinggi dibandingkan kadar sari larut metanol.

#### Pemantauan KLT

Terhadap ekstrak dilakukan pemantauan dengan KLT. Tujuannya untuk mengetahui ada atau tidaknya senyawa flavonoid dan senyawa

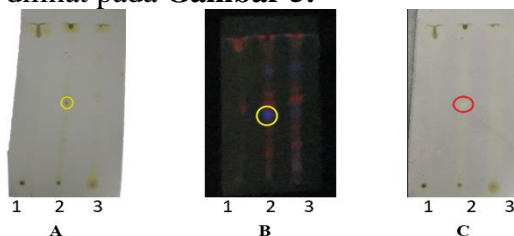
flavonoid yang berpotensi memiliki aktivitas antioksidan. Hasil pemantauan kromatografi lapis tipis ekstrak dapat dilihat pada **Gambar 4**.



**Gambar 4.** Kromatogram Pemantauan Ekstrak

**Keterangan:** 1: Ekstrak n-heksan, 2: Ekstrak Etil asetat, 3: Ekstrak metanol; A: Cahaya tampak, B: Panjang gelombang 254 nm, C: Panjang gelombang 366 nm, FG: kloroform : aseton (4:1) dan FD: Silika gel GF<sub>254</sub>

Kemudian dilakukan pemantauan senyawa flavonoid menggunakan penampak bercak sitroborat dan uji antioksidan secara kualitatif menggunakan plat KLT yang berbeda dengan penampak bercak DPPH 60 ppm. Hasil pemantauan dapat dilihat pada **Gambar 5**.



**Gambar 5.** Uji kualitatif senyawa flavonoid dan aktifitas antioksidan

**Keterangan:** 1: Ekstrak n-heksan, 2: Ekstrak Etil asetat, 3: Ekstrak metanol; A: Sitroborat, B: Panjang gelombang 366 nm, C: DPPH 60 ppm; FG: Kloroform : aseton (4:1) dan FD: Silika gel GF<sub>254</sub>

Berdasarkan pemantauan ekstrak dengan metode kromatografi lapis tipis dapat dilihat spot n-heksan tidak memiliki spot yang begitu terlihat dengan jelas, pada ekstrak etil asetat terdapat spot berwarna biru dengan nilai R<sub>f</sub> 0,86 yang diduga merupakan senyawa flavonoid. Senyawa flavonoid bila direaksikan dengan penampak bercak sitroborat akan memberikan

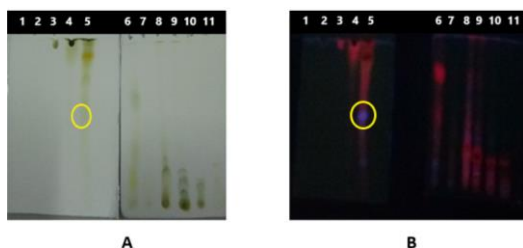
bercak berwarna kuning kehijauan. Sedangkan bila dilihat dibawah sinar UV panjang gelombang 366 nm memberikan bercak berwarna biru.

Pada uji kualitatif aktivitas antioksidan setelah disemprotkan DPPH menunjukkan adanya bercak berwarna kuning dengan latar belakang berwarna ungu. Mekanisme yang terbentuk yaitu DPPH bereaksi dengan senyawa antioksidan akan tereduksi dan terjadi perubahan warna menjadi kuning yang disebabkan oleh berkurangnya ikatan rangkap terkonjugasi pada DPPH (Sayuti, 2015: 77).

Dilihat berdasarkan hasil ekstrak n-heksan tidak terdapat bercak kuning, sehingga kemungkinan tidak terdapat senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan. Pada ekstrak metanol terlihat adanya aktivitas antioksidan dengan bercak berwarna kuning, namun pada ekstrak etil asetat terlihat bercak berwarna kuning yang lebih terlihat jelas adanya aktivitas antioksidan. Sehingga ekstrak etil asetat dilanjutkan untuk isolasi.

#### Isolasi

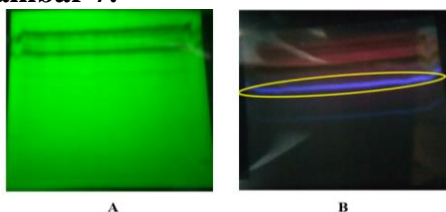
Terhadap ekstrak terpilih etil asetat dilakukan pemisahan lanjut dengan metode KCV. Jumlah ekstrak yang digunakan yaitu 3,1 gram dan dari hasil KCV dihasilkan 11 subfraksi. Kemudian seluruh fraksi yang didapatkan ditotolkan pada plat KLT dan dielusi menggunakan eluen kloroform : aseton (4:1). Hasil KLT selanjutnya dipantau dibawah sinar UV 366 nm. Hasil pemantauan dapat dilihat pada **Gambar 6**.



**Gambar 6.** Kromatografi hasil pemantauan 11 fraksi

**Keterangan:** Fraksi terpilih: Fraksi ke-5; FG: kloroform:aseton (4:1) dan FD: Silika gel GF<sub>254</sub>

Dilakukan isolasi pada fraksi ke 5 dengan metode pemurnian menggunakan plat KLT preparatif. Metode ini digunakan untuk memisahkan senyawa flavonoid dengan senyawa lain yang terdapat didalam fraksi agar memperoleh isolate murni. Hasil KLT preparatif dapat dilihat pada Gambar 7.



**Gambar 7.** Kromatografi Lapis Tipis Preparatif

**Keterangan:** Fraksi terpilih: Fraksi ke-5; FG: Kloroform : aseton (4:1) dan FD: Silika gel GF<sub>254</sub>

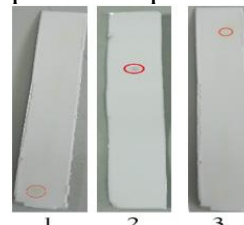
Dari hasil KLT preparatif diduga yang memiliki senyawa flavonoid dihasilkan oleh pita berwarna biru bila dilihat dibawah sinar UV 366 nm. Kemudian pita tersebut dikerok dan dilarutkan dalam metanol, tujuannya agar senyawa target lepas dari silika gel karena sifat metanol yang polar.

### Uji Kemurnian

Isolat yang didapat kemudian diuji kemurnian dengan metode KLT pengembangan tunggal dan KLT dua dimensi. Uji kemurnian dilakukan untuk melihat apakah isolat yang didapat sudah murni atau belum.

Uji KLT pengembangan tunggal dilakukan dengan menggunakan fase

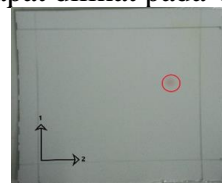
gerak yang berbeda kepolarannya yaitu pelarut n-heksan (non polar), etil asetat (semi polar), dan metanol (polar). Dari ketiganya diperoleh satu bercak yang menunjukkan bahwa isolat sudah murni. Hasil KLT pengembangan tunggal dapat dilihat pada Gambar 8.



**Gambar 8.** Hasil Uji Kemurnian KLT Pengembangan Tunggal

**Keterangan:** FG = 1: n-heksan, 2: Etil Asetat, 3: Metanol; FD: Silika gel GF<sub>254</sub>; Penampak bercak: Larutan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 10%

Uji kemurnian KLT dua dimensi. Plat KLT yang telah dielusi kemudian diputar 90°. Metode ini dilakukan untuk memastikan kemurnian isolat. Pada pengujian diperoleh satu bercak yang menunjukkan isolat tersebut telah murni. Hasil uji kemurnian KLT dua dimensi dapat dilihat pada Gambar 9.



**Gambar 9.** Uji Kemurnian KLT Dua Dimensi

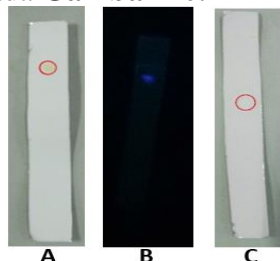
**Keterangan:** FG= 1: Kloroform : Aseton (4:1), 2: Kloroform : Aseton (1:4); FD: Silika gel; GF<sub>254</sub> ; Penampak bercak: Larutan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 10%

Uji identifikasi isolat untuk memastikan isolat yang didapatkan memiliki senyawa flavonoid berpotensi sebagai antioksidan. Isolat yang mengandung senyawa flavonoid disemprot dengan penampak bercak sitroborat menjadi warna kekuningan dan dilihat dibawah sinar UV panjang gelombang 366 nm senyawa menunjukkan warna biru.

plat KLT disemprot dengan larutan DPPH 60 ppm untuk



mengidentifikasi adanya senyawa antoksidan ditandai dengan bercak warna kuning dengan latar belakang ungu. Hasil identifikasi isolat dapat dilihat pada **Gambar 10**.



**Gambar 10.** Hasil Identifikasi Isolat

**Keterangan:** FG: Kloroform : Aseton (4:1) FD: Silika gel GF<sub>254</sub>, A: Sitroborat, B: Sinar UV 366 nm, C: DPPH.

### Uji Karakterisasi

Terhadap isolat uji karakterisasi dengan menggunakan spektrofotometri UV- Sinar Tampak. Hasil dari serapan yang didapat Pita I 466,50 nm dan Pita II 280 nm. Berdasarkan literatur data tersebut termasuk rentang pita I 465-560 dan pita II 270-280 menunjukkan bahwa golongan senyawa tersebut antosianin (Markham, 1988: 39).

### E. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat ditarik kesimpulan bahwa penelitian telah mendapatkan isolat daun melinjo (*Gnetum gnemon* L.) serta telah diidentifikasi bahwa daun melinjo (*Gnetum gnemon* L.) mengandung senyawa flavonoid yang berpotensi sebagai antioksidan yang diduga merupakan senyawa flavonoid golongan antosianin.

### F. Saran

Perlu dilakukan pengujian karakterisasi isolat senyawa flavonoid lebih lanjut pada daun melinjo (*Gnetum gnemon*) dengan menggunakan FTIR, spektrofotometri massa, dan NMR.

### Daftar Pustaka

- Backer, C.A., and R. C. Bakhuizen Van Den Brink. (1963). *Flora of Java* (Spermatophytes), Vol. 1., Published The Auspices of the Rijksherbarium, Leyden.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (2000). *Parameter Standard Umum Ekstrak Tanaman Obat*, cetakan pertama, Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan, Jakarta.
- Dewi, Chandra., Rohula Utami, dan Nur Her Riyadi. (2012). *Aktivitas Antioksidan dan Antimikroba Ekstrak Melinjo* (*Gnetum Gnemon* L.). Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Emilan, T., Kurnia A., Utami Budi., Diyani, LN., dan Maulana A. (2011). *Konsep Herbal Indonesia: Pemastian Mutu Produk Herbal*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Departemen Farmasi Progran Studi Magister Ilmu Herbal. Universitas Indonesia, Depok.
- Harborne, J.B. (1987). *Metode Fitokimia, Penuntun Cara Modern Menganalisis Tanaman, Terbitan kedua*. Terjemahan Padmawinata, K. dan Soediro, I. ITB, Bandung.
- Hariana, H. Arief. (2008). *Tumbuhan Obat dan Khasiatnya Seri 2*. Penebar Swadaya., Jakarta.
- Haryani, Sri., Yuliani Aisyah., dan Irma Yunita. (2016). *Kandungan Senyawa Kimia dan Aktivitas Antioksidan Ektrak Daun Melinjo* (*Gnetum gnemon* L.): *Pengaruh Jenis Pelarut dan Metode Ekstraksi*. Prosiding Seminar Nasional BKS PTN Wilayah Barat Bidang Ilmu Pertanian, Program Studi Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian,



- Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh
- Markham, K. R. (1988). *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. Terjemahan oleh Padmawainata, K. dan Niksolihin S. ITB, Bandung.
- Mersy, T. Tanamal, P. M. Papilaya, dan Alwi Smith. (2017). *Analisis Kandungan Senyawa Flavonoid Daun Melinjo (Gnetum gnemon L.) Berdasarkan Perbedaan Ketinggian Tempat*. ISBN 978-602-18237-1-2, Seminar Nasional Biologi & Pembelajaran Biologi, Program Sarjana, Program Studi Pendidikan Biologi FKIP, Universitas Pattimura Ambon.
- Sangat, M. Harini, *dkk.* (2000). *Kamus Penyakit dan Tanaman Obat Indonesia: (Etnofitomedika I)*. Yayasan Pustaka Obor Indonesia, Jakarta.
- Santoso, Martha. (2014). *Studies on Antioxidant Components of Indonesian Edible Plants and Their Changes during Food Processing and Cooking*. School of Natural Science and Ecological Awareness, Graduate School of Humanities and Sciences. Nara Women's University Japan.
- Sayuti, Kesuma dan Yenrina Rina. (2015). *Antioksidan Alami dan Sintetik*. Andalas University Press, Padang.
- Youngson, Robert. (2005). *Antioksidan: Manfaat Vitamin C dan E Bagi Kesehatan*. Alih Bahasa oleh Susi Purwoko. Arcan, Jakarta.
- Yuslianti, E. Reni. (2018). *Pengantar Radikal Bebas dan Antioksidan*. Deepublish, Yogyakarta.