

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA FLAVONOID  
PADA DAUN SEMBUKAN (*Paederia foetida* L) SERTA UJI AKTIVITASNYA SEBAGAI  
ANTIOKSIDAN**

**Minanti Arna Ekawati<sup>1\*</sup>, I Wayan Suirta<sup>1</sup>, dan Sri Rahayu Santi<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*Jurusan Kimia FMIPA Universitas Udayana, Bukit Jimbaran, Bali*

*\*E-mail : minanti@gmail.com*

**ABSTRAK**

Sembukan adalah tumbuhan liar yang batang dan daunnya telah dimanfaatkan sebagai obat tradisional karena terdapat metabolit sekunder seperti flavonoid, alkaloid, minyak atsiri, dan steroid. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi golongan senyawa flavonoid serta menguji aktivitas antioksidannya. Hasil maserasi 1,2 kg daun sembukan kering menghasilkan ekstrak kental etil asetat 0,34 g, n-butanol 3,12 g, dan air 26,85 g yang positif flavonoid. Pemisahan 3,12 g ekstrak n-butanol dengan kromatografi lapis tipis (KLT) preparatif dengan fase gerak n-butanol : asam asetat glasial : akuades (BAA) menghasilkan 5 fraksi dan 2 fraksi diantaranya yaitu fraksi F2 dan F4 positif flavonoid. Hasil analisis Fraksi F2 dengan FTIR menunjukkan bahwa isolat memiliki gugus fungsi C-H aromatik dan C=C aromatik, OH, C=O, CH alifatik, C-O alkohol, dan C-O eter, sedangkan analisis dengan spektrofotometer UV-Vis menunjukkan isolat menyerap pada panjang gelombang 315,60 nm (bahu) dan 283,80 nm sehingga diduga isolat adalah senyawa flavonoid golongan flavanon dan mempunyai gugus hidroksi pada atom C-3, C-3', dan C4'. Uji aktivitas antioksidan menunjukkan bahwa isolat dapat menangkap radikal bebas 1,1'-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) sebesar 21,59 % pada konsentrasi 50 ppm.

Kata kunci : *Paederia foetida* L, flavonoid, dan antioksidan.

**ABSTRACT**

Sembukan is a wild plant whose stems and leaves have been used as a traditional medicine because they contain secondary metabolites such as flavonoids, alkaloids, essential oils, and steroids. This study aimed to identify the class of flavonoids and the antioxidant activity. The result of maceration of 1.2 kg of dried sembukan leaves produced 0.34 g of concentrated ethyl acetate extract 3.12 g of n-butanol, and 26.85 g of water extracts. The separation of 3.12 g n-butanol extract by the use of preparative thin layer chromatography (TLC) with n-butanol: glacial acetic acid: distilled water (BAA) as mobile phases produced 5 fractions, two of which (F2 and F4 fractions) showed positive against flavonoids test. The analysis result of F2 fraction by FTIR showed that the isolates containing functional groups of OH, C-H aromatic, aliphatic CH, C = O, C-O alcohol, ether C-O and C = C aromatic, and the UV-Vis spectra showed that the isolates had two absorptions at 315.60 nm (shoulder) and 283.80 nm, suggested a flavanones with a hydroxy group at C-3, C - 3 ' and C4 ' atoms. The antioxidant activity test showed that this isolates captured 1,1'-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) free radicals up 21.59% at a concentration of 50 ppm.

Keywords : *Paederia foetida* L, flavonoids, and antioxidant

## PENDAHULUAN

Senyawa kimia yang terdapat dalam tumbuhan semburan (*Paederia foetida* L) cukup banyak diantaranya asperuloside, beragam diantaranya untuk imunomodulator, antihepatotoksik, antispasmodik, hipoglikemik, antitumor, antiinflamasi, antivirus, dan aktivitas purgatif (El-Moaty, 2010). Penelitian yang dilakukan oleh Utami, dkk (2011) mendukung pernyataan tersebut yang menunjukkan bahwa ekstrak etanol pada daun semburan berpotensi sebagai antiinflamasi dengan konsentrasi 20mg/kg BB. Pal (2011) juga melaporkan kandungan metabolit sekunder yang lain dari daun semburan yaitu alkaloid dan flavonoid. Flavonoid merupakan salah satu metabolit sekunder yang terkandung di dalam tumbuhan. Flavonoid umumnya terdapat pada tumbuhan dibagian daun, akar, buah, bunga, batang dan kulit batang. Flavonoid bagi tumbuhan berfungsi untuk melindungi diri dari penyakit dan lingkungan sekitarnya, sedangkan fungsi flavonoid bagi tubuh manusia untuk mencegah penyakit kardiovaskuler, sebab flavonoid adalah senyawa fenolik yang memiliki sifat antioksidatif yang berperan dalam mencegah kerusakan sel oleh radikal bebas yang reaktif (Hagerman *et al.*, 1998).

Flavonoid termasuk senyawa aromatik yang bersifat antioksidan. Antioksidan dapat menghambat proses oksidasi yang timbul akibat adanya reaksi radikal bebas membentuk senyawa yang tidak reaktif. Senyawa flavonoid aktif dalam menangkal radikal bebas ditentukan dari adanya gugus fungsi –OH (hidroksi) (Djarmiko *et al.*, 1998). Senyawa flavonoid yang bersifat antioksidan diantaranya katekin, flavon, flavanon, flavonol, kalkon, dan isoflavon (Markham, 1982; Zuhra *et al.*, 2008).

Mengingat kandungan senyawa flavonoid pada ekstrak n-butanol daun semburan, serta kemampuannya dalam menangkal radikal bebas, mendorong penelitian ini untuk dilakukan dengan mengisolasi dan mengidentifikasi senyawa flavonoid yang terkandung didalamnya serta untuk menguji aktivitasnya sebagai antioksidan.

## MATERI DAN METODE

### Bahan

Tumbuhan yang digunakan sebagai bahan penelitian ini adalah daun semburan

deasetilasperuloside, paederoside, iridoid glikosida, scanderoside, asam paderosidik, arbutin, gamma sitosterol, dan minyak atsiri (Aspan, 2011). Senyawa iridoid glikosida adalah salah satu senyawa yang memiliki manfaat (*Pederia foetida* L) tua, diambil di daerah Buduk, Dalung, Bali pada bulan November tahun 2016. Bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini adalah etanol (teknis dan p.a), n-heksana (teknis), kloroform (teknis dan p.a), etil asetat (teknis), n-butanol (teknis dan p.a), akuades, serbuk magnesium (Mg), asam klorida (pekat dan 5%), asam sulfat (pekat), natrium hidroksida (2 M dan 10%), asam asetat glasial (p.a), asam borat ( $H_3BO_3$ ), alumunium klorida (5%), kristal difenil pikril hidrasil (DPPH), kromatografi lapis tipis (KLT) dan preparatif.

### Peralatan

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah pisau, gunting, blender, neraca analitik, gelas beker, batang pengaduk, labu ukur, pipet volume, pipet tetes, pipet mikro, aluminium foil, kertas saring, tabung reaksi, corong gelas, corong pisah, botol vial, penguap putar vakum (*rotary vacume vaporator*), seperangkat alat kromatografi lapis tipis (KLT), lampu UV 254 nm dan 366 nm seperangkat alat spektrofotometer UV-Vis *double beam* Shimadzu/UV-1800 dan spektrofotometer FTIR Shimadzu/IR Prestige-21.

### Cara Kerja

#### *Ekstraksi dan Partisi Daun Sembukan*

Serbuk halus daun semburan sebanyak 1200 g dimaserasi dengan 10 L etanol teknis 96%. Filtrat hasil maserasi diuapkan menggunakan penguap putar vakum hingga pekat. Ekstrak pekatnya dilarutkan dengan etanol : air (7:3), diuapkan etanolnya, sehingga tersisa ekstrak air. Ekstrak air tersebut dipartisi dengan berbagai macam pelarut yaitu n-heksan, kloroform, etil asetat, dan n-butanol selanjutnya diuji flavonoid.

#### *Uji Fitokimia Flavonoid*

Uji flavonoid menggunakan pereaksi sebagai berikut:

- Uji dengan NaOH 10 % : Sedikit sampel diberikan beberapa tetes NaOH 10 %. Reaksi positif jika adanya perubahan warna yang spesifik.

- Uji Wilstatter : Sedikit sampel ditambahkan serbuk Mg dan HCl pekat. Reaksi positif jika adanya perubahan warna yang spesifik.
- Uji Bate Smith-Matcalfe :Sedikit sampel ditambahkan beberapa tetes H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat, dipanaskan selama 5 menit. Reaksi positif jika adanya perubahan warna yang spesifik.

Noda yang dihasilkan dikeruk, dilarutkan dengan etanol p.a, selanjutnya diuji flavonoid dan kemurniannya dengan KLT.

#### **Identifikasi Isolat**

Isolat positif flavonoid yang relatif murni selanjutnya diidentifikasi menggunakan FTIR dan UV-Vis. Sedikit isolat ditambahkan serbuk KBr, digerus, dimasukkan ke dalam sel, dan siap diidentifikasi menggunakan FTIR. Identifikasi dengan UV-Vis dilakukan melalui beberapa tahap yaitu sedikit isolat diencerkan dengan etanol p.a dan diukur panjang gelombangnya. Isolat yang telah larut dalam metanol selanjutnya ditambahkan pereaksi geser NaOH, AlCl<sub>3</sub>, AlCl<sub>3</sub> + HCl, NaOAc, H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>, serta H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> + HCl, diukur panjang gelombangnya.

#### **Uji Aktivitas Antioksidan DPPH**

- Pembuatan larutan DPPH  
Sebanyak 0,004 g kristal DPPH dilarutkan dalam etanol dengan menggunakan labu ukur 100 mL sehingga diperoleh larutan DPPH 0,004% (b/v).
- Pembuatan larutan uji (sampel)  
Sebanyak 2,5 mg sampel dilarutkan dengan etanol pada labu ukur 25 mL, dikocok dan disaring, sehingga diperoleh larutan induk dengan konsentrasi 100 ppm. Konsentrasi induk dibuat menjadi 4 bagian larutan seri dengan konsentrasi 10, 25, 50, dan 75 ppm. Masing-masing dari larutan seri dipipet 100, 250, 500, dan 750  $\mu$ L, dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL, dan ditambahkan etanol sampai tanda batas.
- Pengujian aktivitas antioksidan  
Sebanyak 3 mL DPPH 0,004% dimasukkan kedalam kuvet, didiamkan selama 30 menit, diukur panjang gelombangnya dengan UV-Vis. Untuk absorbansi sampel larutan uji dipipet 1,0 mL, dimasukkan ke dalam kuvet, ditambahkan 2

#### **Pemisahan dan Pemurnian**

Ekstrak yang positif flavonoid selanjutnya dipisahkan dengan metode KLT preparatif. Pengembang digunakan berdasarkan uji KLT yaitu (BAA) (4:1:5) dan fase diam silika gel GF<sub>254</sub>. Noda pada plat KLT preparatif dapat dilihat melalui lampu UV 254 nm dan 366 nm.

mL DPPH 0,004%, campuran dikocok dan didiamkan selama 30 menit. Absorbansi dibaca menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada  $\lambda_{maks}$  516,2 nm. Aktivitas antioksidan dapat dilihat dengan menurunnya serapan larutan DPPH sebagai akibat adanya penambahan sampel, sedangkan nilai % peredaman radikal bebas dihitung berdasarkan persentase inhibisi terhadap radikal DPPH dari masing-masing konsentrasi larutan sampel.

$$\% \text{ Peredaman} = \frac{A_{kontrol} - A_{sampel}}{A_{kontrol}} \times 100\%$$

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

#### **Ekstraksi dan Partisi Daun Sembukan**

Hasil ekstraksi 1200 kg serbuk kering daun sembukan tua menghasilkan 84,92 g ekstrak pekat etanol. Hasil partisi 70 g ekstrak pekat etanol diperoleh 6,89 g heksan, 4,24 g kloroform, 0,34 g etil asetat, 3,12 g n-butanol, dan 26,85 g air. Ekstrak yang mengandung senyawa flavonoid adalah ekstrak etil asetat, n-butanol, dan air karena ketiga ekstrak tersebut menunjukkan perubahan warna yang spesifik ketika diuji dengan menggunakan pereaksi flavonoid. Ekstrak n-butanol dianalisis lebih lanjut karena jumlahnya mencukupi untuk dilakukan pemisahan, pemurnian, identifikasi, dan uji aktivitas antioksidan.

#### **Pemisahan dan Pemurnian**

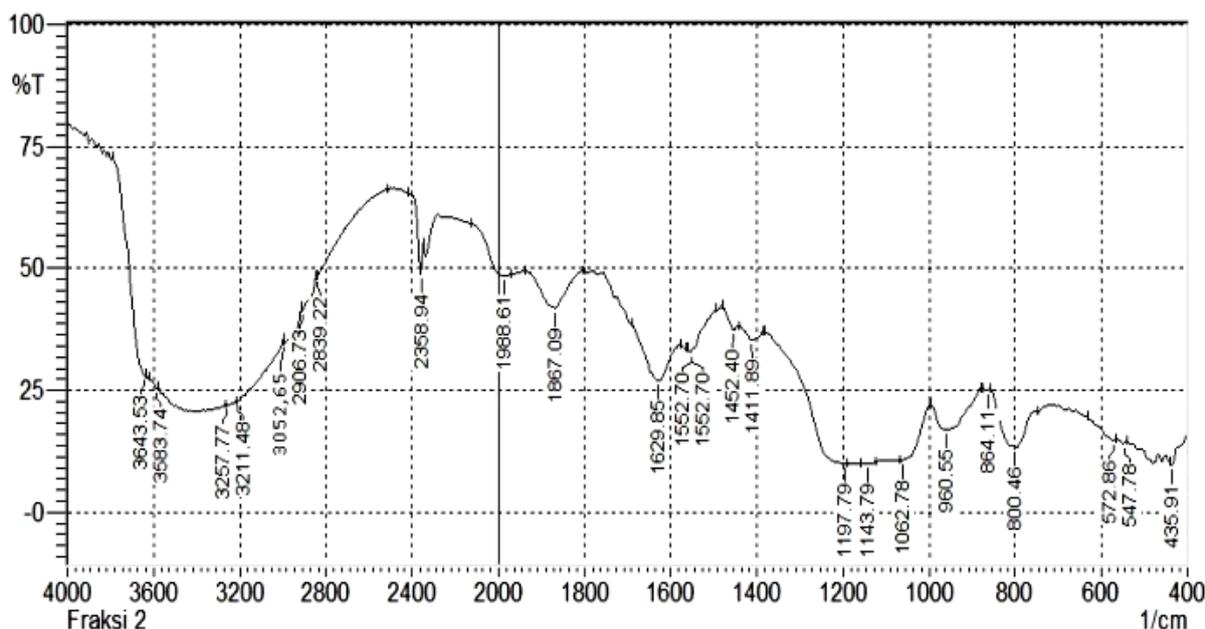
Pemisahan ekstrak n-butanol dengan KLT preparatif menghasilkan 5 fraksi, fraksi F2 dan F4 positif mengandung flavonoid. Fraksi 2 dianalisis lebih lanjut karena jumlahnya mencukupi untuk dilakukan pemurnian, identifikasi dan uji aktivitas antioksidan. Hasil uji kemurniannya menggunakan KLT menghasilkan 1 noda dengan pengembang n-butanol : asam asetat glasial : akuades (BAA)

(4:1:5), n-butanol : etanol : akuades (BEA) (4:1:2,2), dan kloroform : asam asetat glasial : akuades (KAA) (30:15:2).

### Identifikasi Isolat

Hasil identifikasi isolat (F2) ditunjukkan pada Gambar 1 dengan spektrofotometer FTIR. Gambar tersebut menunjukkan vibrasi ulur gugus -OH terikat, bentuk pita melebar terdapat pada daerah gelombang 3257,77  $\text{cm}^{-1}$  dan ditunjang dengan adanya vibrasi tekuk C-O alkohol pada gelombang 1062,78  $\text{cm}^{-1}$ . Kedua serapan tersebut mengindikasikan adanya gugus OH alkohol yang terikat pada atom karbon. Serapan lemah pada gelombang 3052,65  $\text{cm}^{-1}$  menunjukkan gugus C-H aromatik, dugaan tersebut diperkuat oleh serapan dari C=C aromatik pada

gelombang 1629,85  $\text{cm}^{-1}$  dan serapan lemah dari tekuk C-H aromatik pada daerah bilangan gelombang 800,46  $\text{cm}^{-1}$ . Bilangan gelombang 2906,73  $\text{cm}^{-1}$  dan 2839,22  $\text{cm}^{-1}$  diduga serapan C-H alifatik serta serapan lemah dari vibrasi tekuk C-H alifatik pada gelombang 572,86  $\text{cm}^{-1}$ . Pita serapan kuat, bentuk pita tajam pada daerah gelombang 1867,09  $\text{cm}^{-1}$  menunjukkan adanya gugus karbonil (C=O), sedangkan serapan pada daerah gelombang 1197,79  $\text{cm}^{-1}$ , bentuk pita melebar menunjukkan adanya gugus C-O eter sehingga isolat diduga terdapat gugus-gugus fungsi seperti OH, C-H alifatik, C-H aromatik, C=C aromatik, C-O alkohol, C=O dan C-O eter yang mana gugus fungsi ini merupakan gugus fungsi yang dimiliki senyawa flavonoid (Sastroamidjojo, 1996; Silverstein 1986).



Gambar 1. Spektrum infra merah dari isolat

Hasil analisis isolat (F2) dengan spektrofotometer UV-Vis menunjukkan terdapatnya 2 pita pada serapan maksimum 283,80 nm pada pita II dan bentuk bahu pada 315,60 nm yang merupakan pita I. Senyawa flavonoid golongan flavanon menurut Markham (1988) memberikan rentangan serapan pada panjang gelombang 275-295 nm pada pita II dan 300-330 nm (bahu) pada pita I, sehingga isolat (F2) diduga golongan flavanon.

Pergeseran serapan pada pita II mempengaruhi pola oksigenasi pada cincin A sedangkan pergeseran serapan pada pita I mempengaruhi pola oksigenasi pada cincin B. Pergeseran batokromik pita I ditunjukkan pada Tabel 1 yaitu setelah ditambahkan dengan NaOH

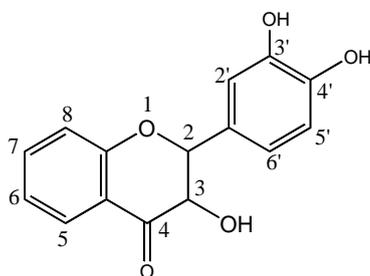
batokromiknya bergeser sebesar 75,4 nm dan terjadi penurunan intensitas setelah 5 menit. Terjadinya pergeseran batokromik dan penurunan intensitas pada pita I kemungkinan menunjukkan adanya gugus OH pada C3, C3' serta C4'. Pergeseran batokromik pada pita I setelah ditambahkan NaOAc ditandai dengan adanya gugus OH pada C3 dan C4'. Pergeseran batokromik pada pita I setelah ditambahkan pereaksi  $\text{H}_3\text{BO}_3$  menunjukkan keberadaan gugus orto dihidroksi pada C3' dan C4'. Pergeseran batokromik pada pita I setelah ditambahkan pereaksi  $\text{AlCl}_3$  menunjukkan adanya OH pada C-3 yang membentuk kompleks antara gugus keton dengan  $\text{AlCl}_3$ . Batokromik bergeser pada pita I setelah ditambahkan pereaksi HCl menunjukkan

Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid pada Daun Sembukan (*paederia foetida* L)  
serta Uji Aktivitasnya sebagai Antioksidan  
(Minanti Arna Ekawati, I Wayan Suirta, dan Sri Rahayu Santi)

adanya gugus orto dihidroksi pada cincin B pada ditunjukkan pada Gambar 2.  
C3' dan C4'. Kerangka dasar senyawa flavonoid

Tabel 1. Data pergeseran panjang gelombang isolat F2

Pereaksi Geser	Panjang gelombang $\lambda_{\text{maks}}$ (nm)		Geseran Panjang gelombang $\lambda_{\text{maks}}$ (nm)	
	Pita I	Pita II	Pita I	Pita II
Etanol	315,60	283,80	-	-
Etanol + NaOH	390,60	278,60	+75	-5,2
Etanol + NaOH (5 menit)	380,20	276,80	+64,6	-7
Etanol + NaOAc	319,20	283,60	+3,6	-0,2
Etanol + NaOAc + H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	356,80	272,00	+41,2	-11,8
Etanol + AlCl <sub>3</sub>	319,60	283,00	+4	-0,8
Etanol + AlCl <sub>3</sub> + HCl	317,60	283,80	+2	-



Gambar 2. Struktur isolat F2 senyawa flavonoid

#### Uji Aktivitas Antioksidan DPPH

Isolat murni diuji aktivitas antioksidannya, bertujuan untuk mengetahui kemampuan isolat dalam menangkap radikal bebas. Pengukuran aktivitas antioksidan ditunjukkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil pengukuran aktivitas antioksidan pada isolat

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi (A)	%Peredaman radikal bebas
Kontrol	0,828	-
10	0,654	21,95
25	0,661	21,12
50	0,657	21,59
75	0,657	21,59

Aktivitas isolat pada konsentrasi 50 ppm sudah mencapai titik jenuh sebab penambahan konsentrasi sampel dari 50 sampai 75 ppm tidak menunjukkan adanya penurunan absorbansi seperti pada Tabel 2, sehingga isolat dapat meredakan radikal bebas DPPH sebesar 21,59 % pada konsentrasi 50

ppm. Hasil pengukuran tersebut menunjukkan bahwa isolat memiliki efektivitas sebagai penangkapradikal bebas yang kurang baik, karena peresentase peredamannya kurang dari 50%.

## SIMPULAN DAN SARAN

### Simpulan

1. Senyawa yang terkandung dalam daun sembukan diduga senyawa flavonoid golongan flavanon yang mengandung gugus OH pada C-3, C-3' dan C4'.
2. Isolat flavonoid pada daun sembukan dapat meredam radikal bebas DPPH sampai 21,59 % pada konsentrasi 50 ppm.

### Saran

Perlu dilakukan analisis lebih lanjut dengan menggunakan NMR dan GC-MS untuk memperoleh struktur molekul dari isolat.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih penulis ucapkan kepada Prof. Dr. Drs. I Made Dira Swantara, M.Si., Anak Agung Bawa Putra, S.Si., M.Si., Drs. Made Siaka, M.Sc (Hons), Drs. I Made Sukadana, M.Si., dan Drs. I Gusti Agung Gede Bawa, M.Si. serta seluruh pihak yang telah membantu proses penelitian.

## DAFTAR PUSTAKA

Aspan, R., Sherley., Dwiyatmoko, Bambang., Biomed, M., Sianipar, Amold.,

- Mardiaty., Usia, Tepy., Bakhtiar, A., Suganda, A.G., Muhtadi, A., Elya, B., Elfahmi., Wilar, G., Warsiati., Wijiasih., Febriani, A., Ayu, R., 2011, *Acuan Sediaan Herbal*, Edisi 1, Badan POM RI, 6 : 47-49
- El-Moaty, H.I.A., 2010, Essential Oil and Iridoid Glycoside of *Nepeta septemcrenata* Erenb, *Journal of Natural Products*, 3 : 103-11
- Djarmiko., Suhardjono., dan Nugroho, A.E., 1998, Uji Praktikum Efek Farmakologi dan Kisaran Dosis Jamu Tensigard sebagai Obat Anti Hipertensi, *Majalah Farmasi Indonesia*, 12(1) : 38-49
- Hagerman, A.E., Riedl, K.M., Jones, G.A., Sovik, K.N., Ritchard, N.T., Hartzfeld, P.W. and Riechel, T.L., 1998, High Molecular Weight Plant Polyphenolics (Tannins) as Biological Antioxidants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(5) : 1887-1892
- Markham, K.R., 1982, *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*, Diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata, ITB, Bandung
- Pal, ManasKumar., 2011, Evaluation Of Anthelmintic Activity Of Leaves Of *PaederiaFoetida*, *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 2(1)
- Sastrohamidjojo, H., 1996, *Sintesis Bahan Alam*, Cetakan ke-1, Liberty, Yogyakarta
- Silverstein, R.M., 1986, *Penyidikan Spektrometri Senyawa Organik*, Edisi ke-4, a.b A. J. Hartomo dan Anny Victor Purba, Erlangga, Jakarta
- Utami, E.T., Kuncoro, R.A., Hutami, I.R., Sari, F.T., dan Handajani, J., 2011, Efek Antiinflamasi Ekstrak Daun Sembukan(*Paederia Scandens*) Pada Tikus Wistar, *Jurnal Majalah Obat Tradisional*, 16 (2) : 95 – 100
- Zuhra, C.F., Tarigan, J.B., dan Sihotang, H., 2008, Aktivitas Antioksidan Senyawa Flavonoid dari Daun Katuk (*Sauropus androgynus* (L) Merr.), *Jurnal Biologi Sumatera*, 3(1) : 7-10