

**KANDUNGAN FLAVONOID
DALAM DAUN SEMBUNG (*Blumea balsamifera L*)
SEBAGAI
ANTIDIABETES**

Penulis :

Prof. Dr. Ir. Sri Wahjuni, M.Kes.

Editor :

dr. Ida Bagus Amertha Putra Manuaba, S.Ked., M.Biomed.

Penerbit:



PT. Intisari Sains Medis

**KANDUNGAN FLAVONOID
DALAM DAUN SEMBUNG (*Blumea balsamifera L*)
SEBAGAI ANTIDIABETES**

Penulis :

Prof. Dr. Ir. Sri Wahjuni, M.Kes.

Editor :

dr. Ida Bagus Amertha Putra Manuaba, S.Ked., M.Biomed.

Layout dan Desain Sampul :

Wayan Iwan Suryawan

Penerbit :

PT. Intisari Sains Medis

Redaksi :

Jl. Batanghari IIIC, No. 9
Kelurahan Panjer, Denpasar Selatan
Denpasar - Bali

Distributor Tunggal

PT. Intisari Sains Medis
Jl. Batanghari IIIC, No. 9
Kelurahan Panjer, Denpasar Selatan
Denpasar - Bali

Cetakan pertama : Januari 2021
2020, vii + 53 hlm, 16 x 23 cm

ISBN : 978-623-95502-1-9

Hak cipta dilindungi undang-undang
Delarang memperbanyak karya tulis ini dalam bentuk dan dengan cara
apapun tanpa ijin tertulis dari penerbit

Kata Pengantar



Penulis panjatkan syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa (Ida Sang Hyang Widhi Wasa) atas berkatnyalah tulisan daun sembung sebagai antidiabetes. Diabetes adalah salah satu penyakit yang banyak menyerang masyarakat dengan prevalensi meningkat secara dramatis selama dua dekade terakhir menjadi 382 juta kasus pada tahun 2013. Penyakit ini ditandai dengan adanya hiperglikemia yang merupakan suatu kondisi dengan kadar glukosa dalam plasma darah yang melebihi batas normal. Produksi radikal bebas yang berlebih menyebabkan hiperglikemia sehingga memicu

terjadinya stress oksidatif. Stress Oksidatif merupakan ketidak seimbangan oksidan dalam tubuh, dengan anti oksidan yang diasup; Flavonoid merupakan senyawa yang berfungsi sebagai antioksidan yang dapat menangkalkan kerusakan sel tubuh yang disebabkan oleh radikal bebas, sehingga dapat berperan dalam mencegah terjadinya beberapa penyakit degeneratif, salah satunya yakni penyakit diabetes melitus

Efek samping yang dihasilkan oleh obat hiperglikemia (antidiabetes) saat ini menyebabkan peminat obat herbal untuk penyakit diabetes meningkat. Daun sembung (*Blumea balsamifera* L) adalah salah satu bahan obat tradisional yang mengandung senyawa antioksidan, dan diindikasikan sebagai obat penyakit diabetes melitus. Daun merupakan bagian tanaman *blumea balsmifera* L yang paling sering digunakan, sebab mengandung flavonoid yang dapat bertindak sebagai penangkap radikal hidroksil sehingga mencegah aksi diabetogenik dari streptozotocin (Stz).

Streptozotocin (STZ, 2-deoxy-2-{3-(methyl-3-nitrosoareido)-D-glucopyranose}) merupakan senyawa kimia yang disintesis dari *Streptomyces achromogenes*, dan digunakan untuk menginduksi baik diabetes mellitus tipe 1 maupun diabetes melitus tipe 2. Diabetes mellitus dapat dikategorikan dalam tiga tipe. Diabetes tipe 1 adalah kondisi diabetes karena kekurangan insulin akibat ketidak mampuan tubuh memproduksi insulin. Diabetes mellitus tipe 2 merupakan kumpulan gejala yang timbul oleh adanya peningkatan kadar glukosa darah akibat kekurangan insulin baik absolut maupun relatif. Diabetes tipe 3 kondisi yang sering teramati pada saat wanita hamil. Setelah melahirkan kadar glukosa darah kembali dalam kisaran normal.

Normal adalah istilah yang dikenal untuk setiap makhluk hidup bahwa tidak ada perbedaan signifikan dengan kelompoknya, meskipun dalam derajat yang bervariasi, setiap hidup yang memiliki perbedaan apa pun biasanya tidak diperhitungkan, dimana penggunaan kata yang normal hanya bisa subjektif. Subjektif daun sembung pada kelinci dengan metode pembebanan glukosa peroral menyatakan bahwa senyawa dalam daun sembung berpotensi sebagai antidiabetes.

Penulisan kandungan flavonoid dalam daun sembung (*Blumea balsamifera* L) sebagai antidiabetes ini, masih jauh dari sempurna. Ini sangat disadari oleh penulis. Berpijak dari sinilah penulis dengan rendah hati memohon kritik dan saran kepada pembaca tulisan ini.

Penulis
Medio Desember 2020

Daftar Isi



| | |
|--|-----|
| Kata Pengantar | iii |
| Daftar Isi | v |
| Daftar Gambar | vi |
| Daftar Tabel | vii |
| | |
| BAB I PENDAHULUAN | 1 |
| Morfologi tumbuhan daun sembung | 3 |
| Kandungan kimia daun sembung | 5 |
| BAB II MEKANISME DAUN SEMBUNG MENURUNKAN DIABETES | 8 |
| Antioksidan | 12 |
| Analisis Fitokimia | 14 |
| Isolasi dan identifikasi senyawa flavonoid | 14 |
| Kromatografi lapis tipis | 17 |
| BAB III UJI ANTIOKSIDAN | 27 |
| Kapasitas antioksidan (IC_{50}) | 27 |
| BAB IV PENUTUP | 31 |
| BAB V SIMPULAN DAN SARAN | 45 |
| Simpulan | 45 |
| Saran | 45 |
| | |
| DAFTAR PUSTAKA | 46 |

Daftar Gambar



| | | |
|-----------|---|----|
| Gambar 1 | Tanaman Sembung | 4 |
| Gambar 2 | Sistem Penomoran Turunan Senyawa Flavonoid..... | 10 |
| Gambar 3 | Kerangka flavonoid cincin Benzoil dan Cinnamoil..... | 11 |
| Gambar 4 | Kerangka berbagai tipe flavonoid..... | 11 |
| Gambar 5 | Kromatografi LC-MS/MS | 16 |
| Gambar 6 | Spektrum Serapan UV-Vis Jenis Flavonoid yang Berbeda tetapi Pola Hidroksilasinya Sama..... | 21 |
| Gambar 7 | Kurva Standar kuesertin..... | 34 |
| Gambar 8 | Spektra UV-Vis dari Isolat..... | 39 |
| Gambar 9 | Diidentifikasi struktur senyawa flavonoid..... | 41 |
| Gambar 10 | Spektra Inframerah dari Isolat..... | 42 |
| Gambar 11 | Kurva hubungan konsentrasi isolat dengan % inhibisi | 44 |

Daftar Tabel



| | | |
|-----------|--|----|
| Tabel 1. | Kadar glukosa darah tikus setelah diinduksi streptozotisin | 6 |
| Tabel 2. | Perubahan Warna Beberapa Golongan Flavonoid dari Reaksi Uji Warna..... | 10 |
| Tabel 3 | Tipe, Mekanisme, dan Sumber Antioksidan Alami..... | 13 |
| Tabel 4 | Rentang Serapan Spektrum UV-Vis Golongan Flavonoid | 21 |
| Tabel 5 | Penafsiran spektrum 'NaOMe' | 23 |
| Tabel 6 | Penafsiran Spektrum 'AlCl ₃ ' dan 'AlCl ₃ /HCl' | 24 |
| Tabel 7 | Penafsiran Spektrum 'NaOAc' | 25 |
| Tabel 8 | Penafsiran Spektrum 'NaOAc/H ₃ BO ₃ ' | 27 |
| Tabel 10 | Hasil Partisi Ekstrak Etanol dengan n-heksana, Kloroform, dan Etil asetat | 32 |
| Tabel 11 | Hasil Uji Flavonoid pada Masing-masing Ekstrak Hasil Partisi..... | 32 |
| Tabel 12 | Hasil Perhitungan Kadar Total Flavonoid setiap Fraksi..... | 34 |
| Tabel 13 | Hasil Pemisahan Komponen Ekstrak n-heksana dengan KLT | 35 |
| Tabel 14. | Hasil pemisahan ekstrak n-heksana dengan KLT preparatif | 36 |
| Tabel 15 | Hasil Uji Flavonoid Fraksi Hasil KLT Preparatif..... | 36 |
| Tabel 16 | Hasil KLT Uji Kemurnian | 38 |
| Tabel 17 | Data Panjang Gelombang dan Pergeseran Panjang Gelombang Isolat F4 | 40 |
| Tabel 18 | Data Spektrum Inframerah | 43 |
| Tabel 19 | Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Isolat..... | 43 |

BAB I

DAUN SEMBUNG (*Blumea balsamifera* L)

PENDAHULUAN

Pada saat ini salah satu pemanfaatan bahan alami adalah untuk mengatasi stres oksidatif. Stres oksidatif terjadi disebabkan oleh ketidak seimbangan jumlah radikal bebas dengan antioksidan endogen dalam tubuh. Hal ini akan mengakibatkan kerusakan oksidatif pada membran sel. Kerusakan oksidatif adalah kerusakan biomolekul penyusun sel akibat adanya reaksi dengan radikal bebas yang terjadi dan dapat menimbulkan kerusakan pada sel, jaringan, dan organ sehingga akan mempercepat proses penuaan dan timbulnya berbagai penyakit degeneratif, seperti kanker, jantung, dan diabetes mellitus.

Diabetes melitus (DM) merupakan suatu kelompok penyakit metabolik yang ditandai dengan hiperglikemia. Hiperglikemia adalah suatu keadaan dimana terjadi peningkatan kadar glukosa darah puasa penderita di atas 110 mg/dl serta glukosa darah 2 jam pp (*post prandial*) di atas 140 mg/dl (PERKENI, 2012). Hiperglikemia yang berlangsung bertahun-tahun dapat menimbulkan berbagai komplikasi dan mematikan

Pencegahan terhadap stres oksidatif ini membutuhkan asupan antioksidan dari luar tubuh (antioksidan eksogen) baik berupa vitamin maupun obat, baik yang sintetis maupun yang herbal, karena antioksidan endogen tidak mampu menetralkan radikal bebas dalam tubuh. Proses hambatan dari antioksidan biasanya terjadi pada saat reaksi-reaksi inisiasi atau propagasi pada reaksi oksidasi lemak atau molekul lainnya di dalam tubuh dengan cara menyerap dan menetralkan radikal bebas atau mendekomposisi peroksida (Zheng, 2009).

Flavonoid merupakan senyawa fenol alam yang paling banyak kandungannya dalam tanaman khususnya tanaman obat. Senyawa fenolik dan flavonoid merupakan senyawa antioksidan sehingga senyawa ini diketahui dapat menangkap atau menyediakan atom hidrogen dalam radikal bebas yang mengakibatkan reaksi peroksidasi lipid dan reaksi kerusakan DNA dapat dicegah (Parwata *et al.*, 2016). Kandungan senyawa fenol, flavonoid, dan aktivitas antioksidan yang sangat kuat dalam ekstrak tanaman obat dapat menghambat kerusakan sel pada pankreas karena flavonoid dapat menetralkan radikal bebas (Jack, 2012). Kandungan senyawa flavonoid pada rimpang temu kunci bersifat

antioksidan dan menghambat pertumbuhan fibrosarkoma. Kandungan flavonoid pada daun nangka dan buah kersen, daun sembung juga diketahui mempunyai aktivitas antioksidan yang sangat kuat (Sri Wahjuni.,2020;Parwata *et al.*, 2016).

Penggunaan obat herbal sebagai antioksidan terus meningkat, salah satu diantaranya adalah daun sembung (*Blumea balsamifera* L). Daun sembung mengandung lebih dari 100 bahan kimia seperti minyak atsiri, flavonoid, alkohol, dihidroflavon, sterol, asam organik, mono terpen, sesquiterpen, triterpen, yang memiliki efek bioaktivitas. Kebanyakan studi yang ada meneliti tentang flavonoid dan minyak atsiri yang memiliki efek bioaktivitas baik *in vitro* maupun *in vivo* (Pang.,*et.al.*2014). Beberapa penelitian, daun sembung mengandung senyawa metabolit sekunder seperti senyawa fenol, terpenoid dan flavonoid (Mega, 2010). Tanaman sembung merupakan salah satu bahan alami yang telah banyak dimanfaatkan oleh masyarakat untuk mengobati berbagai jenis penyakit. Daun sembung juga dapat dimanfaatkan sebagai obat analgesik dan antiinflamasi alami (Eswaraiah *et al.*, 2012). Sementara daun sembung yang dimanfaatkan sebagai minuman kesehatan telah dikenal di beberapa negara, seperti Vietnam, Kamboja dan Thailand (Kamonwannasit *et al.*, 2013).

Peredaman radikal bebas oleh ekstrak etanol daun sembung segar menunjukkan bahwa dengan konsentrasi yang tinggi akan meningkatkan nilai aktivitasnya sebagai antioksidan. Kandungan kimia pada daun sembung berpotensi sebagai senyawa antioksidan karena memiliki nilai IC₅₀ = 13,44 mg/mL untuk ekstrak air, ekstrak metanol dengan nilai IC₅₀=16,55 mg/mL, ekstrak etil asetat dengan nilai IC₅₀ =14,20 mg/mL, dan nilai IC₅₀ =24,45 mg/mL untuk ekstrak etanol (Sri Wahjuni.*et.al.*,2020; Parwata, *et.al.*2018). Sembung (*Blumea balsamifera*)berasal dari Asia tropis, dari India hingga Indo-china, China selatan, Taiwan hingga wilayah Malaysia, Indonesia, dan Philipina. Di Indonesia sembung ditemukan di seluruh kepulauan (Aguilar.,1999). *Blumea balsamifera* L adalah tumbuhan yang selalu hijau, dan berbunga disepanjang tahun. Sembung memiliki kecenderungan tumbuh liar di pinggir jalan dan tanah lapang, ditanah lapang yang penuh rumput atau semak belukar, ditepi sungai, hutan sekunder, daratan rendah, dan wilayah pegunungan hingga ketinggian 2200 – 3000 mdpl.

Umumnya sembung tumbuh di daerah yang lembab walaupun diantara batu–batu, namun ditemukan juga namun ditemukan juga di daerah yang bermusim kering ringan sampai berat. Sembung toleran terhadap kebakaran dan mudah berkecambah kembali dari dalam tanah sehingga sering ditemukan di padang rumput sesudah terbakar atau bekas kebon (Kinbo.,*et al.*,2011).

Kandungan flavonoid ekstrak air daun sembung jenis *Blumea balsamifera* L berpotensi dikembangkan sebagai antioksidan alami dan antihiperглиkemia. Kandungan kadar flavonoid yang tinggi pada ekstrak metanol daun sembung diduga menurunkan kadar glukosa darah pada tikus Wistar yang hiperглиkemia (Sri Wahjuni.*et.al*,2020;Parwata.,*et.al*.2018).

Penggunaan daun sembung jenis *Blumea balsamifera* L sebagai antioksidan alami belum banyak dikenal oleh masyarakat dan penelitian terkait senyawa flavonoid dalam daun sembung jenis belum banyak dilakukan terutama di Indonesia. Berdasarkan hasil uji pendahuluan, diketahui bahwa ekstrak etanol *Blumea balsamifera* L mengandung senyawa golongan flavonoid. Flavonoid merupakan senyawa antioksidan yang dapat menangkalkan merusakkan sel tubuh yang disebabkan oleh radikal bebas, sehingga dapat berperan berperan dalam mencegah terjadinya beberapa penyakit degeneratif, salah satunya yakni penyakit diabetes melitus .

Diabetes melitus (DM) yang juga dikenal sebagai *non-communicable disease* merupakan salah satu penyakit sistemik yang paling memprihatinkan di Indonesia. Hal ini dikarenakan penyakit DM memiliki angka kejadian dan kematian yang cukup tinggi. Diabetes melitus suatu kondisi konsentrasi glukosa dalam darah secara kronis lebih tinggi (hiperглиkemia) daripada nilai normal, akibat tubuh kekurangan insulin atau fungsi insulin tidak efektif.

Morfologi Daun Sembung

Sembung (*Blumea balsamifera* L) merupakan spesies tanaman yang dalam genum *Blumea*, family *Astereceae* (*Compositae*). Di beberapa daerah di Indonesia daun sembung dikenal dengan berbagai nama yang berbeda, demikian pula di beberapa negara mempunyai nama yang berbeda (Raharja.,2016). Tanaman perdu dengan tinggi lebih 4 m. Batang hijau tua tegak bulat dengan diameter 3–5 cm, bagian atas batang berbulu lebat dan aromatis. Daun tunggal berukuran panjang 6–30 cm, dan lebar 1,5 – 12 cm berbentuk lonjong, bagian pangkal dan ujung lancip, pinggir bergerigi, pertulangan dan menyirip, dan terdapat 2 – 3 daun tambahan pangkal daunnya. Permukaan daun bagian atas agak kasar, sedangkan bagian bawah daun berambut rapat dan halus. Bunga majemuk, bertangkai dengan mahkota bunga berwarna putih kekuningan, terdapat di ketiak daun, dan ujung batang, panjang bunga 0,9 cm. Buah berwarna putih kecoklatan dengan bentuk berupa kotak selindris berukuran panjang 1 mm, keras dan berambut. Biji tanaman berbentuk pipih dan berwarna putih. Akar berupa akar tunggang dan

berwarna putih susu (Kinho.,*et.al* 2011).

Sembung (*Blumea balsamifera*) berasal dari Asia tropis, dari India hingga Indo-China. China selatan, Taiwan hingga wilayah Malaysia, Indonesia dan Filipina. Di Indonesia sembung ditemukan di seluruh kepulauan (Aguilar, 1999). Tanaman sembung (*Blumea balsamifera*) adalah tumbuhan yang selalu hijau , dan berbunga di sepanjang tahun. Sembung memiliki kecenderungan tumbuh liar dipinggir jalan dan tanah lapang, di tanah yang penuh dengan rumput dan semak belukar, di tepi sungai, hutan sekunder, dstaran rendah dan wilayah pegunungan hingga ketinggian 2200 – 3000 mdpl. Bagian daun *Blumea balsamifera* sebagai obat antidiabetes, dan antioksidan, Gambar 1. Daun sembung.

Masyarakat biasa menggunakan daun sembung untuk obat dengan cara memotong daun kecil-kecil, dan direbus sampai tersisa sebagian, lalu meminumnya (Hariana,2014).

Taksonomi *Blumea balsamifera* L

Menurut Kinho, *et.al.*2011 memiliki taksonomi: Kingdom :Plantae;Subkingdom: Embryophyta; Division: Spermatophyta; Subdivision:Angiospermae; Class: Dicotylodena; Order: Asterales:Family:



Gambar 1. Tanaman Sembung (Raharjo.,2016).

Astereaceae (Compositae): Genus: *Blumea*; Species: *blumea balsamifera* (L).

Kandungan kimia daun sembung

Blumea balsamifera mengandung lebih dari 100 bahan kimia, seperti minyak atsiri, flavonoid, alkohol, dihidroflavon, sterol, asam organik, monoterpen, sesquiterpen, triterpen yang dapat memiliki efek biokaktivitas. Kebanyakan studi yang ada meneliti tentang flavonoid, dan atsiri yang memiliki efek *in vivo* maupun *in vitro* (Pang.,*et.al.*,2014) mengidentifikasi kandungan fitokimia *blumea balsamifera* alkaloid, terriod,tanin, dan glikosida (Isnawati.,2006), melaporkan hasil identifikasi kandungan *Blumea balsamifera* Malang,Tawangmangun, dan Bogor antara lain tanin, flavonoid, L-campor, boneol, caryophylene, β -camphene, dan α -humulene.

Etnomedisin Dan Farmakologi

Bagian tanaman *Blumea balsamifera* L yang paling sering digunakan sering untuk pengobatan adalah daunnya. Secara tradisional di Indonesia sembung digunakan untuk pengobatan rematik, nyeri haid, influenza, kembung, sakit tulang,diare, sariawan, asma, angina pectoris (Kinho 2011). Masyarakat biasa menggunakan daun sembung untuk obat dengan cara memotong daun kecil-kecil,dan direbus sampai tersisa sebagian, lalu meminumnya. *Blumeabalsamifera* L dilaporkan sebagai :

a. Antidiabetik

Roy,*et.al* (2013) melaporkan bahwa ekstrak *blumea balsamifera* L secara signifikan dapat menurunkan kadar hemoglobin, glikosida pada tikus yang diinduksi streptozotocin. Lee *et,al* (2012) melaporkan ekstrak *blumea balsamifera* L memiliki apigenin yang dapat menghambat enzim *aldose reduktase* pada tikus, sehingga dapat mencegah komplikasi pada penyakit diabetes.

b. Antioksidan

Roy *et.al* (2013) melaporkan bahwa ekstrak daun sembung dapat meningkatkan enzim antioksidan glutation (GSH), dan katalase (CAT) pada tikus yang diinduksi streptozotosin. Streptozosin (STZ) yang diinduksi ke tikus menyebabkan hiperglikemia, dan menghasilkan radikal bebas.

Radikal bebas dihasilkan oleh penderita diabetes, karena diabetes melitus merupakan kelainan metabolisme yang disebabkan oleh terjadinya kerusakan pada sel-sel β pulau langerhans dalam kelenjar pankreas, sehingga hormon insulin

disekresikan dalam jumlah sedikit, bahkan tidak sama sekali (Raharjo,2016). Tabel 1 di bawah ini menunjukkan PO (glukosa tikus normal tidak diberikan streptozotocin), P1 sampai P5 diinduksi dengan streptozotocin.

Streptozotocin (STZ) digunakan sebagai pembuat diabetes pada tikus. Streptozotocin merupakan bahan kimia yang banyak digunakan dalam induksi hewan coba menjadi diabetes melitus (DM). Zat ini bersifat sitotoksik sehingga mengakibatkan kerusakan pada sel beta pankreas dan efeknya dapat dilihat dalam tujuh puluh dua jam (72) atau tiga hari setelah pemberian tergantung pada dosis. Efek toksik streptozotocin diawali pada STZ menembus sel beta pankreas melalui transporter glukosa 2 (GLUT 2). Struktur kimia STZ yang memiliki gugus glukosa mempermudah masuknya ke sel beta karena sel beta pankreas lebih aktif mengambil glukosa dibandingkan sel lainnya (Fauzul, 2019). Setelah STZ menembus sel pankreas terjadi alkilasi (masuknya gugus metil) DNA melalui

Tabel 1. Kadar glukosa darah tikus setelah induksi streptozotocin

| Kelompok Perlakuan | Kadar Glukosa Darah Tikus (mg/dL) | | | Rata-Rata |
|--------------------|-----------------------------------|-----|-----|-----------|
| | I | II | III | |
| P0 | 97 | 99 | 100 | 98.25 |
| P1 | 165 | 163 | 165 | 164.75 |
| P2 | 166 | 165 | 162 | 163.25 |
| P3 | 165 | 165 | 167 | 165.50 |
| P4 | 164 | 163 | 167 | 164.25 |
| P5 | 160 | 167 | 163 | 163.25 |

gugus nitrosourea mengakibatkan kerusakan DNA Kerusakan pada DNA akibat STZ dapat mengaktivasi poli ADP-ribosilasi yang mengakibatkan penghabisan *nicotinamide adenine dinucleotide* (NAD*). STZ sebagai donor NO (nitric oxide) saat proses metabolisme dalam sel yang mengakibatkan peningkatan aktivitas guanilil siklase dan pembentukan cGMP sehingga mengakibatkan kerusakan dalam sel (Ida Fitriana, 2015). Efek toksik dari STZ juga dapat membangkitkan oksigen reaktif seperti peningkatan anion superoksida dan aktivitas xantin oksidasi dalam mitokondria. Hal ini akan menghambat siklus krebs dan menurunkan penggunaan oksigen dalam mitokondria karena produksi ATP yang terbatas dan nukleotida dalam sel beta pankreas terjadi pengurangan yang mengakibatkan menghambat sekresi dan sintesis insulin. Selain itu, pemberian STZ dapat menyebabkan peningkatan malondialdehid (MDA) yang secara signifikan menurunkan aktivitas enzim antioksidan seperti katalase, glutathion, peroksidase

dan superoksidase dismutase. Hal ini menyebabkan semakin rentannya sel beta pankreas terhadap radikal bebas (Husna,*et.al.* 2019).

Pertanyaan

1. Apakah yang dimaksud dengan stres oksidatif ?
2. Beri contoh kerusakan oksidan ?
3. Apakah definisi penyakit diabetes (Hiperglikemia)?
4. Pencegahan terhadap stress oksidatif membutuhkan asupan antioksidan dari luar tubuh (antioksidan eksogen) beri contohnya?
5. Sebutkan proses hambatan dari antioksidan apa saja?
6. Definisi flavonoid ialah
7. Mengapa flavonoid mempunyai aktivitas antioksidan?
8. Penggunaan Obat Herbal sebagai antioksidan terus meningkat mengapa?
9. Mengapa *Blumea balsamifera* L (Daun sembung) dapat sebagai antioksidan?
10. Apakah fungsi streptozotocin ?

BAB II

MEKANISME DAUN SEMBUNG MENURUNKAN DIABETES

Di Cina daun sembung digunakan untuk mengobati gangguan pada sistem pernafasan, perut, dan ginjal. Daun sembung juga dibuat sebagai, obat rematik, obat gosok, penyembuh perut kembung, dan obat sakit jantung. Selain itu daun sembung juga digunakan sebagai obat penghilang stres, hepatitis, asma, pembengkakan hati dan ginjal, bahan antibiotik untuk TBC, reumatik, tumor, *stimulant* kerja syaraf, sakit perut, aprodoksidak, paru-paru, kanker, malaria, dan tukak lambung (Setyowati, 2009).

Kandungan kimia Sembung

Kandungan kimia pada daun sembung mengandung lebih 100 bahn kimia seperti minyak atsiri, flavonoid, alkohol, dihidroflavon, sterol. Asam organik, monoterpen, sesquiterpen, triterpen yang dapat memiliki efek bioaktivitas. Kebanyakan studi ada meneliti tentang flavonoid, dan minyak atsiri yang memiliki efek bioaktivitas baik *in vivo* maupun *in vitro* (Pang.,*et.al.*,2014). Balangcod *et.al* (2012) mengidentifikasi terkandung dalam sembung secara fitokimia yaitu: alkaloid, teroid, tanin, glikosida, dan flavonoid.

Flavonoid merupakan salah satu golongan fenol alam yang tersebar luas pada tumbuhan hijau dan mengandung 15 atom karbon pada inti dasarnya, yang tersusun dalam konfigurasi C6-C3-C6 yaitu dua cincin aromatik yang dihubungkan oleh satuan tiga karbon yang dapat atau tidak dapat membentuk cincin ketiga (Markham, 1988). Flavonoid terdapat pada bagian tumbuhan termasuk daun, akar, kayu, kulit, tepung sari, nektar, bunga, buah, dan biji (Markham, 1988). Senyawa flavonoid dalam tumbuhan dapat terikat dengan gula atau tanpa gula. Flavonoid yang terikat dengan gula disebut glikosida, sedangkan flavonoid yang tidak terikat dengan gula disebut aglikon. Semua turunan senyawa flavonoid mempunyai sejumlah sifat yang sama. Ada sekitar sembilan kelas flavonoid yang dikenal yaitu

Selain itu, daun Sembung diduga mengandung flavonoid golongan 5-hidroksi-7-etoksi-flavanon yang aktif menghambat pertumbuhan fibrosarkoma pada tikus (Parwata *et al.*, 2016).

Uji antibakteri terhadap *Escheria coli* menunjukkan daya hambat pertumbuhan bakteri sebesar 1,3 cm dan terhadap *Staphylococcus aureus* menunjukkan zona hambatan pertumbuhan bakteri sebesar 1,5 cm, sehingga memiliki potensi sebagai antibakteri (Janshen, 2017). Uji larva udang atau *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) menghasilkan LC₅₀ sebesar 281 ppm sehingga berpotensi untuk dikembangkan sebagai agen antikanker karena nilai LC₅₀ < 1000 ppm, dimana zat atau senyawa dikatakan aktif bila nilai LC₅₀ < 1000 ppm (Dewi, 2013).

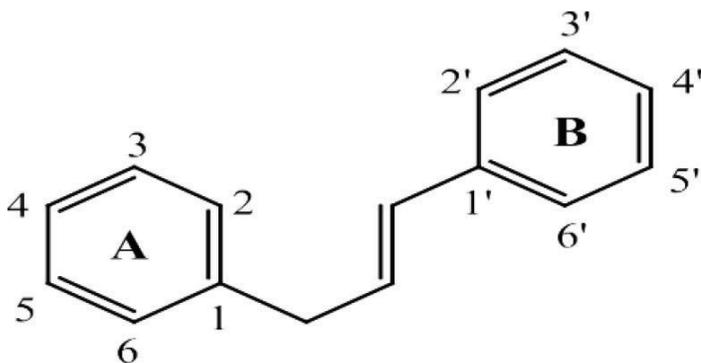
Uji analgetik menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun sembung dengan dosis 1,272 mg/kg BB dan 2,544 mg/kg BB berpotensi sebagai analgetik. Uji hispatologi pada lambung tikus didapatkan bahwa ekstrak etanol daun sembung mampu menurunkan erosi atau ulserasi serta pendarahan sehingga dapat dikembangkan lebih lanjut sebagai bahan obat antitukak (Mega, 2010). Selain itu, senyawa terpenoid pada ekstrak etanol daun sembung ditemukan mempunyai aktivitas antioksidan dengan persen peredaman 87,50% (5 menit) dan 92,98% (60 menit) sehingga dapat digunakan sebagai antioksidan alami (Mulyadi, 2012).

Flavonoid terdapat pada bagian tumbuhan termasuk daun (Markham, 1988). Senyawa flavonoid dalam tumbuhan dapat terikat dengan gula atau tanpa gula. Flavonoid yang terikat dengan gula disebut glikosida, sedangkan flavonoid yang tidak terikat dengan gula disebut aglikon. Semua turunan senyawa flavonoid mempunyai sejumlah sifat yang sama. Ada sekitar sembilan kelas flavonoid yang dikenal yaitu antosianin, antosianidin, flavonol, flavon, glikoflavon, biflavonil, khalkon dan auron, flavanon, dan isoflavon. Antosianin, flavonol, dan flavon tersebar luas dalam tumbuhan, sedangkan khalkon, auron, flavanon, dihidrokhalkon, dan isoflavon penyebarannya hanya terbatas pada golongan tertentu saja (Harborne, 2006). Sistem penomoran untuk turunan senyawa flavonoid ditunjukkan pada Gambar 2.

Penggolongan senyawa flavonoid mula-mula didasarkan kepada telaah sifat kelarutan dan reaksi warna. Identifikasi kualitatif untuk senyawa flavonoid dapat dilakukan dengan uji warna. Tabel 2 menunjukkan perubahan warna beberapa golongan flavonoid (Geissman, 1962)

Struktur berbagai golongan flavonoid bervariasi sesuai dengan kerangka dasar heterosiklik beroksigen yang dapat berupa gama piron, piran atau pirilium. Kecuali pada auron dan khalkon, siklisasi terjadi antara atom karbon didekat cincin benzena(B), dan satu gugus hidroksil cincin A (Robinson, 1991). Perbedaan di bagian rantai karbon nomor 3 menentukan klasifikasi dari senyawa flavonoid

yaitu flavon, flavonol, flavanon, flavanonol, isoflavon, auron, dan khalkon. Kerangka flavonoid cincin benzoil dan cinnamoil dapat dilihat pada Gambar 3. Kerangka dari tipe-tipe flavonoid dapat dilihat pada Gambar 3.

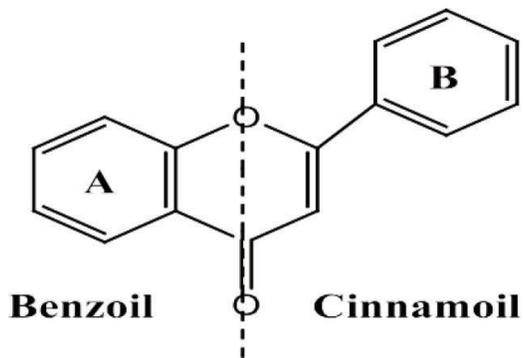


Gambar 2. Sistem Penomoran Turunan Senyawa Flavonoid (Harborne, 2006).

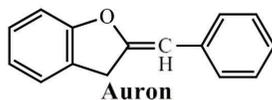
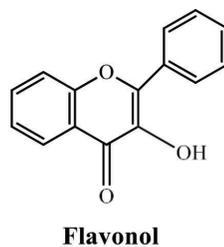
Tabel 2. Perubahan Warna Beberapa Golongan Flavonoid dari Reaksi Uji Warna.

| Jenis Flavonoid | Reaksi Warna | | |
|-------------------------------|--|--------------------------------|----------------------------|
| | Larutan NaOH | H ₂ SO ₄ | Mg-HCl |
| Kalkon | Oranye-merah | Oranye, merah, -magenta | - |
| Dihidrosikalkon | Tidak berwarna-kuning muda | Tidak berwarna-kuning muda | - |
| Auron | Merah-ungu | Merah-magenta | - |
| Flavanon atau dihidroflavonol | Kuning/oranye (dingin), merah/ungu (panas) | Oranye-merah tua | Merah, magenta, ungu, biru |
| Flavon | Kuning | Kuning-oranye | Kuning-merah |
| Flavonol | Kuning-oranye | Kuning-oranye | Kuning-magenta |
| Flavanonol | Kuning muda jadi coklat | Kuning-kemerahan | Kuning-magenta |
| Leukoantosianin | Kuning | Merah tua | Pink |
| Antosianin dan antosianidin | Biru-ungu | Kuning-oranye | Merah-pink |
| Katekin | Kuning, merah, coklat | Merah | - |
| Isoflavon | Kuning | Kuning | Kuning |
| Isoflavanon | Kuning | Kuning | - |

Sumber : Geismann (1962)



Gambar 3. Kerangka flavonoid cincin Benzoil dan Cinnamoil (Robinson, 1991).



Gambar 4. Kerangka berbagai tipe senyawa flavonoid (Robinson, 1991).

Radikal Bebas

Radikal bebas dapat didefinisikan sebagai molekul atau fragmen molekul dimana pada orbit terluarnya mempunyai satu atau lebih elektron tidak berpasangan, sifatnya sangat labil dan sangat reaktif (Halliwell dan Gutteridge, 2007). Dalam konsentrasi yang tinggi, radikal bebas akan membentuk stres oksidatif yaitu suatu proses penghancuran yang dapat merusak seluruh sel tubuh (Pham-Huy *et al.*, 2009). Stres oksidatif terjadi bila tidak adanya keseimbangan dengan kadar antioksidan tubuh yang baik. Awal dari kerusakan-kerusakan sel terjadi apabila radikal bebas sempat bertemu dengan enzim atau asam lemak tak jenuh yang disertai dengan penurunan mekanisme pertahanan tubuh (Halliwell dan Gutteridge, 2007).

Radikal bebas memiliki dua sifat yaitu memiliki reaktivitas yang tinggi karena memiliki kecenderungan menarik elektron, dan dapat mengubah suatu molekul menjadi suatu radikal. Sifat kecenderungan untuk menarik elektron merupakan sifat radikal bebas yang mirip dengan oksidan sehingga disebut juga penerima elektron. Namun tidak semua oksidan merupakan radikal bebas. Reaksi rantai (*chain reaction*) terbentuk karena kedua sifat radikal bebas diatas yang apabila menjumpai molekul lain akan membentuk radikal baru lagi. Radikal hidroksil merupakan senyawa yang paling berbahaya karena memiliki reaktivitas yang sangat tinggi (Halliwell dan Gutteridge, 2007).

Radikal bebas juga dapat didefinisikan sebagai molekul yang kehilangan satu atau lebih elektron pada permukaan kulit luarnya. Contohnya, O_2 yang merupakan struktur normal dengan elektron yang lengkap dari oksigen. Bila kehilangan elektronnya, struktur kimianya berubah menjadi O_2^- atau dinamakan Superoksida yang merupakan salah satu radikal bebas (Kumalaningsih, 2006). Radikal bebas sendiri terdiri dari beberapa tipe berdasarkan oksigen reaktif dan proses produksi atau pembentukan yang terjadi. Tipe radikal bebas biologis yang mengganggu sel tubuh meliputi O^* , $\bullet OH$, $ROO\bullet$, $H_2O_2\bullet$, 1O , $NO\bullet$, $ONOO_2\bullet$, dan $HOCl\bullet$ (Arief, 2006).

Antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa pemberi elektron (elektron donor) atau reduktan. Senyawa ini memiliki berat molekul kecil, tetapi mampu menginaktivasi berkembangnya reaksi oksidasi, dengan cara mencegah terbentuknya radikal (Winarsi, 2007). Antioksidan adalah zat yang dapat melawan pengaruh bahaya dari radikal bebas sebagai hasil metabolisme oksidatif, yaitu hasil reaksi-reaksi

kimia dan proses metabolik yang terjadi di dalam tubuh. Antioksidan memiliki fungsi untuk menghentikan atau memutuskan reaksi berantai dari radikal bebas yang terbentuk di dalam tubuh, sehingga dapat menyelamatkan sel-sel tubuh dari kerusakan akibat radikal bebas (Hernani dan Rahardjo, 2005).

Cara kerja dari antioksidan di dalam tubuh ialah dengan cara mencegah terbentuknya radikal hidroksil. Radikal hidroksil merupakan radikal bebas yang paling berbahaya bagi tubuh karena dapat menginisiasi terjadinya peroksidasi lemak (Wikana, 2011). Secara umum, antioksidan dapat digolongkan menjadi dua, yaitu enzimatis dan non-enzimatis. Antioksidan enzimatis meliputi superoksida dismutase (SOD), katalase, dan glutathion peroksidase (GSH, Prx). Sedangkan antioksidan non-enzimatis merupakan vitamin yang meliputi alfa tokoferol (vitamin E), beta karoten (pro vitamin A), dan asam askorbat (vitamin C). (Rohmatussolihat, 2009).

Antioksidan yang terdapat dalam tanaman bekerja dalam beberapa mekanisme, yaitu menghambat pembentukan ROS, sebagai enzim yang menghancurkan ROS, merupakan molekul kecil larut air yang menetralkan radikal bebas, dan menyerap elektron atau energi yang berlebih dari ROS (Halliwell dan Gutteridge, 2007). Contoh-contoh antioksidan alami ditampilkan pada Tabel 2.

Tabel 3. Tipe, Mekanisme, dan Sumber Antioksidan Alami

| Antioksidan | Peran | Mekanisme | Sumber |
|---|--|---|---|
| Asam askorbat (Vitamin C) | Menetralkan ROS | Memberi elektron pada ROS sehingga struktur ROS menjadi seimbang | Sayur dan buah, seperti stroberi, kiwi, bunga kol |
| Vitamin E, isomer tokoferol dan tokotrienol | Menetralkan ROS dan memutuskan ikatan rantai | Mengambil elektron dan/atau energi | Sayuran hijau (bayam), kacang, biji-bijian |
| Karotenoid | Memutus ikatan rantai | Memutus ikatan rantai pada tekanan parsial oksigen yang rendah, komplemen kerja dari Vit. E | Wortel, tomat, labu, melon, sayuran hijau, paprika |
| Flavonoid | Menetralkan ROS | “ <i>Sacrificial interaction</i> “ | Apel, teh, buah beri, ceri, buah sitrus, daun parsley |

Sumber : Halliwell and Gutteridge (2007)

Analisis Fitokimia

Analisis fitokimia merupakan bagian dari ilmu farmakognosi yang mempelajari metode atau cara analisis kandungan kimia yang terdapat dalam tumbuhan atau hewan secara keseluruhan atau bagian-bagiannya, termasuk cara isolasi atau pemisahannya (Moelyono, 1996). Fitokimia atau kimia tumbuhan telah berkembang menjadi satu disiplin ilmu tersendiri berada diantara kimia organik bahan alam dan biokimia tumbuhan, serta berkaitan dengan keduanya. Bidang perhatiannya ialah aneka ragam senyawa organik yang dibentuk dan ditimbun oleh tumbuhan, yaitu mengenai struktur kimianya, biosintesisnya, perubahan serta metabolismenya, penyebaran secara ilmiah dan fungsi biologisnya (Harborne, 2006).

Analisis fitokimia terhadap ekstrak, fraksi, dan isolat aktif dilakukan dengan menggunakan pereaksi-pereaksi yang spesifik terhadap suatu golongan senyawa metabolit sekunder. Pengerjaannya dapat dilakukan pada tabung reaksi yang dengan mereaksikan sedikit ekstrak, fraksi, dan isolat dengan pereaksi golongan tertentu. Perubahan warna yang terjadi tergantung dari pereaksi yang digunakan dan golongan senyawa yang terkandung di dalamnya. Uji kualitatif terhadap senyawa golongan flavonoid dapat dilakukan dengan menambahkan pereaksi NaOH 10%, pereaksi Bate-Smith Metcalfe (H₂SO₄ pekat) dan pereaksi Wilstater (serbuk Mg dan HCl pekat).

Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid

Ekstraksi merupakan proses pemisahan untuk menarik sebagian atau seluruh komponen kimia yang terdapat dalam sampel bahan alam dengan pelarut yang sesuai (Harbone, 2006). Proses ekstraksi terjadi karena adanya perpindahan massa komponen dalam suatu bahan yang akan diekstraksi ke dalam pelarut. Ekstraksi termasuk proses pemisahan melalui dasar operasi difusi. Proses pemisahan secara difusi terjadi karena adanya perpindahan *solute*, searah dari fasa *diluent* ke fasa *solvent* sebagai akibat beda potensial diantara dua fasa yang saling kontak hingga pada suatu saat sistem berada dalam kesetimbangan (Santoso, 2004).

Proses ekstraksi pada tumbuhan tergantung pada tekstur dan kandungan air bahan tumbuhan yang diekstraksi, serta jenis senyawa yang akan diisolasi. Jaringan tumbuhan yang diekstraksi sebaiknya digunakan jaringan tumbuhan yang segar atau tumbuhan yang jaringannya telah dimatikan terlebih dahulu dengan cara mencelupkan ke dalam alkohol panas kemudian dikeringkan pada

suhu ruangan. Pencelupan jaringan tumbuhan ke dalam alkohol panas bertujuan untuk menghindari terjadinya oksidasi atau hidrolisis enzimatis. Jaringan tumbuhan yang telah kering kemudian dihaluskan hingga berbentuk serbuk sebelum dilakukan proses ekstraksi (Harbone, 2006).

Proses ekstraksi dapat dibagi menjadi dua cara, yaitu cara panas dan cara dingin. Ekstraksi secara panas terdiri dari soxhletasi, sedangkan ekstraksi secara dingin meliputi maserasi dan perkolasi (Sudjadi, 1988). Ekstraksi secara dingin memiliki keuntungan dalam proses ekstraksi total, yaitu memperkecil kemungkinan terjadinya kerusakan pada senyawa termolabil yang terdapat pada sampel. Sebagian besar senyawa dapat terekstraksi dengan ekstraksi secara dingin, walaupun ada beberapa senyawa yang memiliki keterbatasan kelarutan terhadap pelarut pada suhu ruangan (Heinrich *et al.*, 2010).

Maserasi merupakan salah satu proses ekstraksi secara dingin yang dilakukan dengan merendam sampel menggunakan pelarut yang sesuai, baik pelarut murni maupun campuran pelarut pada temperatur ruangan. Prinsip dari metode maserasi ini adalah difusi pelarut ke dalam sel tumbuhan. Pelarut yang umumnya digunakan dalam maserasi adalah etanol. Etanol digunakan untuk mengisolasi senyawa organik dalam bahan alam karena etanol mampu melarutkan seluruh golongan senyawa metabolit sekunder (Sudjadi, 1988).

Proses maserasi memiliki beberapa keuntungan diantaranya pengerjaannya lebih praktis dan tidak memerlukan pemanasan sehingga senyawa-senyawa yang tidak tahan terhadap panas dapat diperoleh, sedangkan kekurangan dari proses maserasi adalah waktu yang dibutuhkan untuk mengekstrak sampel relatif lama. Hasil dari proses maserasi ini berupa maserat, maserat yang diperoleh selanjutnya diuapkan dengan alat penguap putar vakum pada tekanan rendah sehingga akan dihasilkan ekstrak kental atau yang umumnya disebut ekstrak kasar (Sudjadi, 1988).

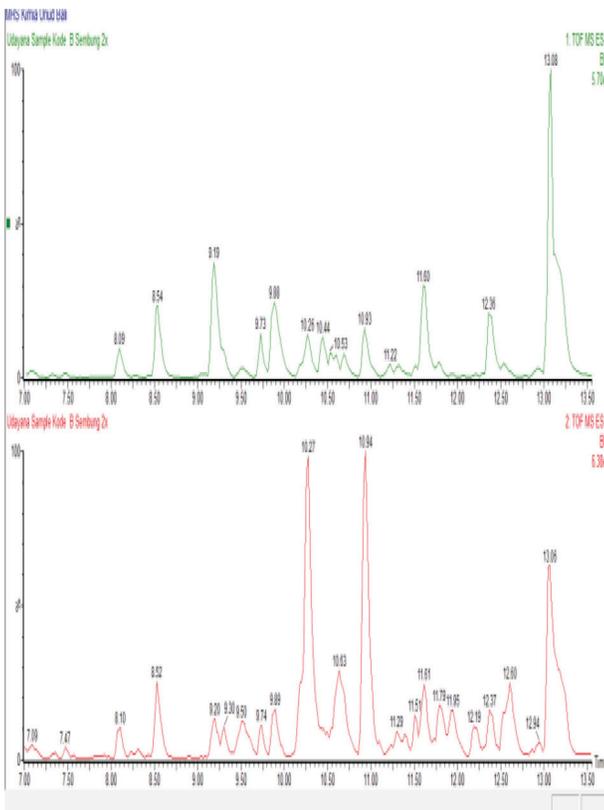
Pemisahan senyawa organik

Proses pemisahan senyawa kimia dalam suatu simplisia umumnya menggunakan teknik ekstraksi cair-cair (fraksinasi) dan teknik kromatografi, dimana kromatografi ialah metode pemisahan secara fisika yang mana komponen-komponen yang akan dipisahkan terbagi menjadi dua fase, yaitu fase diam dan fase gerak.

A. Fraksinasi

Fraksinasi merupakan suatu metode pemisahan yang digunakan untuk mengelompokkan senyawa-senyawa dalam ekstrak kasar berdasarkan tingkat kepolarannya. Teknik yang paling umum digunakan dalam metode fraksinasi adalah dengan menggunakan corong pisah dan menggunakan dua pelarut yang tidak saling campur (Sudjadi, 1988). Pemilihan pelarut pada fraksinasi umumnya bergantung pada sifat analitnya dimana pelarut dan analit harus memiliki sifat yang sama, contohnya analit yang sifat lipofilitasnya tinggi akan terekstraksi pada pelarut yang relatif non polar seperti n-heksana sedangkan analit yang semi polar terlarut pada pelarut yang semi polar seperti etil asetat atau diklorometana (Venn, 2008).

Fraksinasi umumnya dimulai dengan pelarut non polar, kemudian dilanjutkan dengan pelarut semi polar, dan terakhir dengan pelarut polar. Diidentifikasi Fraksinasi flavonoid dengan metode LC-MS/MS diperlihatkan pada Gambar 5.



Gambar 5. Kromatografi LC-MS/MS (Sri Wahjuni., 2020)

LC-MS/MS adalah teknik yang banyak digunakan untuk berbagai aplikasi yang memiliki sensitivitas. Dan spesifisitas sangat tinggi (Hecto henrique.,*et.al.*2018). Liquid chromatography mass spectrometry (LC-MS/MS) menggabungkan kemampuan pemisahan fisik dari kromatografi cair dengan spesifisitas spektrometri massa (Plazoni.,2009). Prinsip spektroskopi massa yaitu suatu sampel dalam keadaan gas akan dibombardir oleh energi dengan elektron yang tinggi (energi potensial ionisasi 185 -300 kkal/mol), yang dapat menyebabkan ion organik (Silverstein.,2005). ion organik ini akan teroksidasi dan berikatan dengan radikal bebas, sehingga radikal bebas menjadi senyawa lebih stabil (senyawa ini adalah flavonoid dari daun sembung)

Panjuantiningrum *et.al* (2009) melaporkan bahwa flavonoid bekerja di luar pankreas. Flavonoid menstimulasi pemanfaatan glukosa perifer dengan cara meningkatkan jalur glikolitik dan glikogenik,yang secara simultan menekan jalur glikolisis dan jalur glukoneogenesis. Melalui mekanisme itu senyawa flavonoid dapat mengendalikan glukosa darah.

B. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi lapis tipis (KLT) adalah salah satu metode pemisahan komponen menggunakan fase diam berupa plat dengan lapisan bahan adsorben *inert*. KLT merupakan salah satu jenis kromatografi analitik. KLT sering digunakan untuk identifikasi awal karena relatif sederhana dan murah. KLT termasuk dalam kategori kromatografi planar, selain kromatografi kertas. KLT juga merupakan analisis cepat yang memerlukan bahan sangat sedikit, baik penyerap maupun cuplikannya. KLT dapat digunakan untuk memisahkan senyawa-senyawa yang sifatnya hidrofobik seperti lipida dan hidrokarbon yang sukar dikerjakan dengan kromatografi kertas. KLT juga berguna untuk mencari eluen terbaik untuk kromatografi kolom, analisis fraksi yang diperoleh dari kromatografi kolom, identifikasi senyawa secara kromatografi, dan isolasi senyawa murni skala kecil (Fessenden, 2003). Kelebihan dari KLT adalah pemakaian pelarut dan cuplikan yang jumlahnya sedikit, waktu pemisahan yang relatif cepat, dan dapat digunakan untuk tujuan analisis (Gritter, 1991).

Pertimbangan untuk pemilihan pelarut pengembang (eluen) umumnya sama dengan pemilihan eluen untuk kromatografi kolom. Dalam kromatografi adsorpsi, pengelusi eluen naik sejalan dengan pelarut

(misalnya dari heksana ke aseton, ke alkohol, ke air). Eluen dapat berupa pelarut tunggal dan campuran pelarut dengan susunan tertentu. Pelarut-pelarut pengembang harus mempunyai kemurnian yang tinggi, karena sejumlah air atau zat pengotor lainnya dapat menghasilkan kromatogram yang tidak diharapkan (Soebagio, 2002).

Metode identifikasi yang sederhana dalam KLT adalah dengan menggunakan nilai *Retardation factor* (Rf), yang didefinisikan dengan persamaan:

$$Rf = \frac{\text{Jarak yang digerakkan oleh senyawa}}{\text{Jarak yang digerakkan oleh permukaan pelarut}}$$

Pada gugus-gugus yang besar dari senyawa-senyawa yang susunannya mirip, seringkali harga Rf-nya berdekatan satu sama lain (Sastrohamidjojo, 2002). Perbandingan harga Rf flavonoid yang belum dikenal dengan harga Rf flavonoid yang telah dikenal atau yang sejenis merupakan cara yang berguna untuk membandingkan flavonoid yang sedang diidentifikasi (Markham, 1988).

Flavonoid berupa senyawa polifenol dan warnanya akan berubah bila bereaksi dengan basa sehingga flavonoid mudah dideteksi pada kromatogram. Flavon 7-glikosida berwarna coklat pudar, kuning, atau hijau dengan sinar UV dan berubah menjadi hijau-kuning terang dengan uap NH₃. Isoflavon sukar dicirikan karena reaksinya yang tidak khas dengan pereaksi warna manapun. Beberapa isoflavon (misalnya daidzein) memberikan warna biru muda dengan sinar UV dan bila diuapi amonia, tetapi beberapa flavonoid (misalnya genistein) tampak sebagai bercak lembayung pudar dan dengan amonia berubah menjadi coklat pudar (Harborne, 2006).

C. Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Preparatif

Kromatografi lapis tipis (KLT) preparatif merupakan salah satu metode pemisahan dengan menggunakan peralatan sederhana. Ketebalan penjerap yang sering dipakai adalah 0,5 - 2 mm dengan ukuran plat kromatografi biasanya 20 x 20 cm. Pembatasan ketebalan lapisan dan ukuran plat sudah tentu mengurangi jumlah bahan yang dapat dipisahkan dengan KLT preparatif. Penjerap yang paling umum digunakan adalah silika gel (Hostettmann *et al.*, 1995).

Cuplikan ditotolkan dengan melarutkan cuplikan dalam sedikit pelarut terlebih dahulu dan ditotolkan berupa pita dengan jarak sesempit mungkin karena pemisahan tergantung pada lebar pita. Penotolan dapat dilakukan dengan pipet atau pipa kapiler, tetapi akan lebih baik dengan menggunakan penotol otomatis. Pelarut yang baik untuk melarutkan cuplikan adalah pelarut yang sesuai dengan sifat zat yang diinginkan dalam cuplikan. Pengembangan plat KLT preparatif dilakukan dalam bejana kaca yang berukuran cukup besar. Bejana dijaga tetap jenuh dengan pelarut pengembang dengan bantuan kertas saring yang diletakkan berdiri di sekeliling permukaan bagian dalam bejana (Hostettmann *et al.*, 1995). Kebanyakan penjerap KLT preparatif mengandung indikator fluoresensi yang membantu mendeteksi letak pita yang terpisah pada senyawa yang menyerap sinar *ultra-violet*. Setelah pita ditampakkan dengan sinar UV, senyawa pada penjerap dikerok dari plat kaca. Cara ini berguna untuk memisahkan campuran beberapa senyawa sehingga diperoleh senyawa murni (Gritter *et al.*, 1991).

Pemurnian senyawa organik

Pemurnian suatu simplisia dapat dilakukan dengan menggunakan metode rekristalisasi. Rekristalisasi merupakan suatu pembentukan kristal kembali dari larutan atau leburan dari material yang ada. Metode ini bergantung pada kelarutan zat dalam pelarut tertentu di kala suhu diperbesar. Prinsip dasar dari rekristalisasi adalah perbedaan kelarutan antara zat yang akan dimurnikan dengan zat pengotornya. Karena konsentrasi pengotor biasanya lebih kecil, maka dalam keadaan dingin pengotor akan tetap dalam larutan dan zat yang dimurnikan akan mengendap (Arsyad, 2001).

Ada beberapa syarat agar suatu pelarut dapat digunakan dalam proses rekristalisasi, yaitu memberikan perbedaan daya larut yang cukup besar antara zat yang dimurnikan dengan zat pengotor, tidak meninggalkan zat pengotor pada kristal, mudah dipisahkan dari kristalnya, dan tidak melarutkan zat yang dimurnikan dengan sempurna pada suhu dingin (Arsyad, 2001).

Identifikasi Flavonoid

Pengidentifikasi suatu kandungan tumbuhan dilakukan setelah kandungan itu diisolasi dan dimurnikan, dilakukan penentuan golongannya terlebih dahulu baru kemudian ditentukan jenis senyawa dalam golongan tersebut. Selain itu,

keseimbangan senyawa tersebut harus diperiksa dengan cermat, oleh karena itu dilakukan pemisahan dan pemurnian senyawa dengan menggunakan metode kromatografi (Harborne, 2006).

A. Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometri UV-Vis adalah salah satu metode dalam kimia yang digunakan dalam mengidentifikasi jumlah ikatan rangkap atau konjugasi aromatik yang akan memberikan serapan maksimum dari senyawa yang akan dianalisis (Panji, 2012). Energi yang diserap oleh molekul digunakan untuk transisi dari tingkat keadaan dasar ke tingkat energi yang lebih tinggi (Skoog, 2004). Terjadinya transisi sangat dipengaruhi oleh adanya kromofor dan auksokrom. Kromofor merupakan gugus tak jenuh kovalen yang dapat menyerap radiasi dalam daerah UV-Vis. Auksokrom merupakan gugus jenuh yang terikat pada kromofor yang dapat mengubah panjang gelombang dan intensitas serapan maksimum (Panji, 2012).

Spektrum serapan kandungan tumbuhan dapat diukur dalam larutan yang sangat encer dengan pembanding (blanko pelarut) dan menggunakan spektrofotometer yang merekam otomatis. Penentuan spektrum senyawa golongan flavonoid dalam larutan dapat dilakukan dengan pelarut metanol (CH_3OH) atau etanol ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$) dengan spektrum khas dari flavonoid terdiri atas dua pita pada rentang absorbansi 240-285 nm (pita II) dan 300-550 nm (pita I). Flavonoid yang mengandung sistem aromatik terkonjugasi menunjukkan pita serapan kuat pada daerah spektrum UV-Vis seperti tampak pada Tabel 3 dan Gambar 4.

Kedudukan gugus hidroksil fenol inti senyawa flavonoid dapat ditentukan dengan menambah pereaksi geser ke dalam larutan cuplikan dan mengamati pergeseran puncak serapan yang terjadi. Pereaksi geser yang biasa digunakan untuk menentukan pola oksigenasi pada flavonoid antara lain natrium metoksida (NaOMe) atau natrium hidroksida (NaOH), aluminium klorida (AlCl_3), asam klorida (HCl), natrium asetat (NaOAc), dan asam borat (H_3BO_3) (Markham, 1988). Adapun efek dari masing-masing pereaksi geser terhadap flavon dan flavonol adalah sebagai berikut:

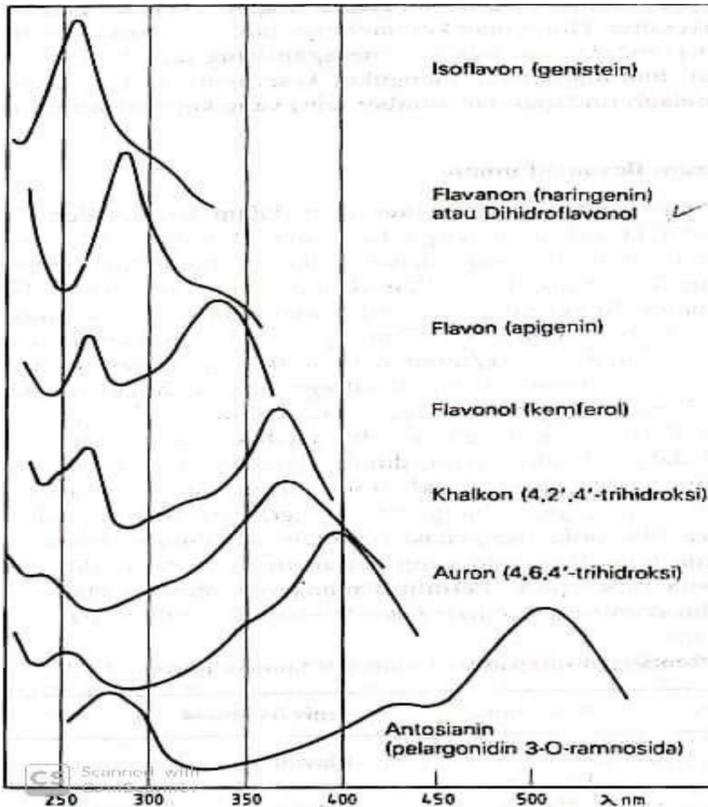
a. Efek Natrium metoksida

Natrium metoksida pada flavon dan flavonol dalam metanol pada umumnya menghasilkan pergeseran batokromik pada semua pita

Tabel 4. Rentang Serapan Spektrum UV-Vis Golongan Flavonoid

| Pita II (nm) | Pita I (nm) | Jenis Flavonoid |
|---------------------------|----------------------|---------------------------------------|
| 250-280 | 310-350 | Flavon |
| 250-280 | 330-360 | Flavonol (3-OH tersubstitusi) |
| 250-280 | 350-385 | Flavonol (3-OH bebas) |
| 245-275 | 310-330 bahu | Isoflavon |
| 245-275 | Kira-kira 320 puncak | Isoflavon (5-deoksi-6,7-dioksigenasi) |
| 275-295 | 300-330 bahu | Flavanon dan dihidroflavonol |
| 230-270 (kekuatan rendah) | 340-390 | Kalkon |
| 230-270 (kekuatan rendah) | 380-430 | Auron |
| 270-280 | 465-560 | Antosianidin dan antosianin |

Sumber : Markham (1988)



Gambar 4. Spektrum Serapan UV-Vis Jenis Flavonoid yang Berbeda tetapi Pola Hidroksilasinya Sama (Markham, 1988).

serapan. Pergeseran batokromik yang besar pada serapan pita I sekitar 40 – 65 nm tanpa penurunan intensitas, menunjukkan adanya gugus 4'-OH bebas, dan flavonol yang tidak mempunyai gugus 4'-OH bebas juga memberikan pergeseran batokromik disebabkan adanya gugus 3-OH. Jika suatu flavonol mempunyai 3 dan 4'-OH bebas, maka spektranya dengan NaOMe akan mengalami dekomposisi. Pereaksi pengganti Natrium metoksida yang cocok adalah larutan NaOH 2M dalam air (Mabry *et al.*, 1970). Penafsiran spektrum NaOMe ditunjukkan pada Tabel 4.

b. Efek AlCl₃

Pembentukan kompleks tahan asam antara gugus hidroksi dan keton yang bertenaga dan membentuk kompleks tahan asam dengan gugus orto, pereaksi ini dapat digunakan untuk mendeteksi kedua gugus tersebut (Markham, 1988). Gugus OH pada C3 dan C5 pada flavon dan flavonol akan membentuk kompleks yang stabil dengan adanya AlCl₃, sebaliknya kompleks antara AlCl₃ dengan gugus *o*- diOH bersifat lebih stabil sehingga dengan penambahan asam akan terdekomposisi, sedangkan kompleks antara AlCl₃ dengan C – keto dan 3/5 – OH tetap stabil dengan adanya asam. Adanya gugus *o*-diOH pada cincin B dapat diketahui jika pada penambahan asam terhadap spektra kompleks AlCl₃ menghasilkan pergeseran hipsokromik sebesar 30 – 40 nm pada pita I (atau pita Ia jika pita I terdiri dari 2 puncak). Dengan adanya pergeseran batokromik pada pita I (dalam AlCl₃/HCl) menunjukkan adanya 5-OH flavon atau flavonol 3-OH tersubstitusi (Mabry *et al.*, 1970). Penafsiran spektrum AlCl₃ ditunjukkan pada Tabel 4.

c. Efek Natrium asetat

Natrium asetat merupakan basa lemah dan hanya akan mengionisasi gugus yang sifat keasamannya tinggi, khususnya untuk mendeteksi adanya gugus 7-OH bebas (Markham, 1988). Flavon dan flavonol yang mempunyai gugus 7-OH bebas menunjukkan pergeseran batokromik sebesar 5 – 20 nm pada pita serapan II. Adanya natrium asetat dan asam borat akan membentuk kompleks dengan gugus *o*-diOH pada semua posisi kecuali atom C5 dan C6. Flavon

dan flavonol yang mempunyai gugus *o*-diOH pada cincin B menunjukkan pergeseran batokromik pada serapan I sebesar 12 – 30 nm. Adanya pergeseran batokromik sebesar 5 – 10 nm pada pita I menunjukkan adanya gugus *o*-diOH pada C6 dan C7 atau C7 dan C8 (Mabry *et al.*, 1970). Penafsiran spektrum NaOAc dan NaOAc/H₃BO₃ ditunjukkan pada Tabel 4 dan Tabel 5.

Tabel 5. Penafsiran spektrum ‘NaOMe’

| Jenis Flavonoid | Pergeseran yang tampak | | Petunjuk penafsiran |
|-----------------------------|---|---------|---|
| | Pita I | Pita II | |
| Flavon Flavonol | Kekuatan menurun terus (artinya penguraian) | | 3,4'-OH, <i>o</i> -diOH pada cincin A; pada cincin B: 3-OH yang berdampingan |
| | Mantap +45 sampai 65 nm kekuatan tak menurun | | 4'-OH |
| | Mantap +45 sampai 65 nm kekuatan menurun | | 3-OH, tak ada 4'-OH bebas |
| | Pita baru (bandingkan dengan MeOH), 320 – 335 nm | | 7-OH |
| Isoflavon | Tak ada pergeseran | | Tak ada OH pada cincin A |
| Flavanon Dihidroflavonol | Kekuatan menurun dengan berjalannya waktu | | <i>o</i> -diOH pada cincin A (penurunan lambat: <i>o</i> -diOH pada cincin B isoflavon) |
| | Bergeser dari k.280 nm ke k. 325 nm, kekuatan naik tetapi ke 330 – 340 nm | | Flavanon dan dihidroflavonol dengan 5,7-OH 7-OH, tanpa 5-OH bebas |
| Khalkon Auron | +80 sampai 95 nm (kekuatan naik) | | 4'-OH (auron) |
| | +60 sampai 70 nm (kekuatan naik) | | 6-OH tanpa oksigenasi pada 4' (auron) |
| | Pergeseran lebih kecil | | 6-OH dengan oksigenasi pada 4' (auron) |
| | +60 sampai 100 nm (kekuatan naik) | | 4-OH (khalkon) |
| | (Tanpa kenaikan kekuatan) | | 2-OH atau 4'-OH dan tanpa 4-OH 4'-OH (2'-OH atau 4-OR juga ada) |
| | +40 sampai 50 nm | | |
| Antosianin | Semuanya terurai kecuali 3- | | Nihil |
| Antosianidin | deoksiantosianidin | | |

Keterangan: k. = kira-kira; Sumber: Markham (1988)

Tabel 6. Penafsiran Spektrum ‘AlCl₃’ dan ‘AlCl₃/HCl’

| Jenis Flavonoid | Pergeseran yang tampak | | Petunjuk penafsiran |
|---|---|---|--|
| | Pita I | Pita II | |
| Flavon | +35 sampai 55 nm | | 5-OH |
| Flavonol (AlCl ₃ /HCl) | +17 sampai 20 nm | | 5-OH dengan oksigenasi pada 6 |
| | Tak Berubah | | Mungkin 5-OH dengan gugus prenil pada 6 |
| | +50 sampai 60 nm | | Mungkin 3-OH (dengan atau tanpa 5-OH) |
| (AlCl ₃) | Pergeseran AlCl ₃ /HCl tambah 30 sampai 40 nm | | <i>o</i> -diOH pada cincin B |
| | Pergeseran AlCl ₃ /HCl tambah 20 sampai 25 nm | | <i>o</i> -diOH pada cincin A (tambahan pada pergeseran <i>o</i> -diOH pada cincin B) |
| Isoflavon, Flavanon Dihidroflavonol (AlCl ₃ /HCl) | | +10 sampai 14 nm | 5-OH (isoflavon) |
| | | +20 sampai 26 nm | 5-OH (Flavanon, dihidroflavonol) |
| (AlCl ₃) | | Pergeseran AlCl ₃ /HCl, tambah 11 sampai 30 nm | <i>o</i> -diOH pada cincin A (6,7 dan 7,8) |
| | | Pergeseran AlCl ₃ /HCl, tambah 30 sampai 38 nm | Dihidroflavonol tanpa 5-OH (tambahan pada sembarang pergeseran <i>o</i> -diOH) |
| Khalkon Auron (AlCl ₃ /HCl) | +48 sampai 64 nm | | 2'-OH (khalkon) |
| | +40 nm | | 2'-OH (khalkon) dengan oksigenasi pada 3' |
| (AlCl ₃) | +60 sampai 70 nm | | 4-OH (auron) |
| | Pergeseran AlCl ₃ /HCl, tambah 40 sampai 70 nm | | <i>o</i> -diOH pada cincin B |
| | Penambahan lebih kecil | | Mungkin <i>o</i> -diOH pada cincin A |
| Antosianin | +25 sampai 35 nm | | <i>o</i> -diOH |
| Antosianidin (AlCl ₃) | (pada pH 2 – 4) | | Banyak <i>o</i> -diOH atau <i>o</i> -diOH (3-deoksi antosianidin) |
| | Pergeseran lebih besar | | |

Sumber: Markham (1988)

Tabel 7. Penafsiran Spektrum 'NaOAc'

| Jenis Flavonoid | Pergeseran yang tampak | | Petunjuk penafsiran |
|---------------------------------|------------------------|---|--|
| | Pita I | Pita II | |
| Flavon Flavonol Isoflavon | | +5 sampai 20 nm (berkurang bila ada oksigenasi pada 6 atau 8) | 7-OH |
| | | Kekuatan berkurang dengan bertambahnya waktu | Gugus yang peka terhadap basa, mis. 6,7 atau 7,8 atau 3',4'-diOH |
| Flavanon Dihidroflavonol | | +35 nm +60 nm | 7-OH (dengan 5-OH) 7-OH (tanpa 5-OH) |
| | | Kekuatan berkurang dengan bertambahnya waktu | Gugus yang peka terhadap basa, mis. 6,7 atau 7,8-diOH |
| Khalkon Auron | | Pergeseran batokrom atau bahu pada panjang gelombang yang lebih panjang | 4' dan/atau 4-OH (khalkon) 4' dan/atau 6-OH (auron) |

Sumber: Markham (1988)

Tabel 8 Penafsiran Spektrum 'NaOAc/H₃BO₃'

| Jenis Flavonoid | Pergeseran yang tampak | | Petunjuk penafsiran |
|--|--|--|---|
| | Pita I | Pita II | |
| Flavon Flavonol Auron Khalkon | +12 sampai 36 nm (nisbi terhadap spektrum MeOH) | | <i>o</i> -diOH pada cincin B |
| | Pergeseran lebih kecil | | <i>o</i> -diOH pada cincin A (6,7 atau 7,8) |
| Isoflavon Flavanon Dihidroflavonol | | +10 sampai 15 nm (nisbi terhadap spektrum MeOH) | <i>o</i> -diOH pada cincin A (6,7 atau 7,8) |

Sumber: Markham (1988)

B. Spektrofotometer FTIR

Spektrofotometer inframerah tertransformasi fourier (*Fourier Transformed Infrared*, FTIR) dapat mengukur secara cepat gugus fungsi tanpa merusak dan mampu menganalisis beberapa komponen secara serentak. Spektrum inframerah suatu senyawa dapat memberikan gambaran dan struktur molekul senyawa tersebut yang dapat dihasilkan dengan mengukur absorpsi radiasi, refleksi, atau emisi di daerah inframerah (Griffiths, 1975). Spektrum inframerah suatu senyawa memberikan gambaran mengenai berbagai gugus fungsional dalam molekul organik berdasarkan bilangan

gelombang, misalnya O-H, C-H dan N-H menyerap di daerah 3800-2700 cm^{-1} , C=O, C=C, C=N dan N=O menyerap pada daerah 1900-1500 cm^{-1} , dan C-C, C-O dan C-N menyerap pada daerah 1300-800 cm^{-1} . Daerah antara 4000-1300 cm^{-1} merupakan daerah yang khusus berguna untuk identifikasi gugus fungsional dimana daerah ini menunjukkan absorpsi yang disebabkan oleh vibrasi uluran. Daerah antara 1300-900 cm^{-1} adalah daerah sidik jari, sering kali sangat rumit karena menunjukkan absorpsi yang disebabkan oleh vibrasi uluran dan tekukan. Daerah sidik jari merupakan daerah frekuensi spesifik untuk pengenalan suatu senyawa, karena pada daerah ini perbedaan yang sedikit saja dalam struktur suatu molekul dalam senyawa akan memberikan perubahan yang jelas pada distribusi puncak serapannya (Fessenden, 2003). Spektrum FTIR senyawa flavonoid memberikan serapan karakteristik yang membedakan senyawa flavonoid dengan senyawa metabolit sekunder lainnya. Gugus benzena dari flavonoid memberikan serapan pada daerah 1600- 1450 cm^{-1} . Selain itu, gugus hidroksil memberikan serapan pada daerah 3500- 3200 cm^{-1} (Griffiths and Chalmers, 2002).

Pertanyaan

1. Apakah yang dimaksud dengan identifikasi kualitatif untuk senyawa flavonoid ?
2. Beri contoh sembilan kelas flavonoid ?
3. Mengapa Spektrofotometer Inframerah transformasi fourier (FTIR) dapat secara cepat mengenal gugus fungsi?
4. Apakah perlunya untuk penafsiran “NAOMe”?
5. Apakah definisi Liquid chromatography mass spectrometry (LC-MS/MS) itu?
6. Apasaja penafsiran “NaOAc” itu?
7. Mengapa tinggi rentang serapan UV-Vis golongan flavonoid?
8. Auksochrom merupakan.....
9. Mengapa *Blumea balsamifera* L (Daun sembung) dapat sebagai antioksidan?
10. Apakah fungsi pemurnian.....

BAB III

Uji Aktivitas Antioksidan

Kapasitas antioksidan (IC₅₀)

Kapasitas atau aktivitas antioksidan menggambarkan kemampuan suatu senyawa untuk menghambat laju reaksi pembentukan radikal bebas. Penentuan kapasitas antioksidan yang terdapat dalam tumbuhan pada umumnya menggunakan spektrofotometer dengan mengeksplorasi bahan-bahan alam

terutama senyawa bioaktif yang terdapat pada tumbuh-tumbuhan dan mikroorganisme yang hidup di darat maupun di air (Sandrasari, 2010). Kemampuan atau kapasitas antioksidan suatu senyawa dapat diketahui dari nilai IC₅₀ yang didapat seperti pada Tabel 8. Nilai IC₅₀ dan kemampuan antioksidan.

Tabel 8. Penafsiran Spektrum 'NaOAc/H₃BO₃'

| Nilai IC ₅₀ | Keterangan |
|------------------------|-------------|
| < 50 | Sangat Kuat |
| 50 – 100 | Kuat |
| 100 – 150 | Sedang |
| 150 – 200 | Lemah |

Sumber : Molyneux, 2004 dalam Tristantini *et al.* (2016)

Berdasarkan Tabel 8 diketahui apabila nilai IC₅₀ suatu senyawa kurang dari 50 maka kemampuan antioksidannya sangat kuat, jika nilai IC₅₀ suatu senyawa berada dari 50 sampai 100 maka kemampuan antioksidannya kuat. Nilai IC₅₀ suatu senyawa berada dari 100 sampai 150 maka kemampuan antioksidannya sedang dan lemah jika berada dari 150 sampai 200 (Molyneux, 2004 dalam Tristantini *et al.*, 2016).

Persentase peredaman

Persentase peredaman radikal bebas dapat ditentukan melalui pengujian aktivitas antioksidan senyawa-senyawa organik yang terkandung dalam tumbuhan dan sintetis dengan menggunakan metode *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl* (DPPH) sebagai senyawa radikal bebas, yang ditetapkan secara spektrofotometri. Metode DPPH memberikan informasi mengenai reaktivitas senyawa yang diuji dengan suatu DPPH radikal. Ekstrak tanaman yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan

bila direaksikan dengan DPPH akan terjadi reaksi penangkapan hidrogen oleh DPPH yang menyebabkan DPPH radikal menjadi netral. DPPH mengalami reduksi sehingga menyebabkan warna ungu memudar dan digantikan warna kuning yang berasal dari gugus pikril, dan diukur pada panjang gelombang maksimum (Prayoga, 2013).

Metode DPPH merupakan metode yang sederhana, cepat, dan mudah untuk screening aktivitas penangkapan radikal beberapa senyawa. Hal ini dikarenakan ekstrak yang diuji dengan DPPH langsung diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis. Mekanisme reaksi antara DPPH dengan senyawa flavonoid. Cara menghitung daya hambat yaitu :

$$\% \text{ Daya hambat} = \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \dots\dots\dots(1)$$

Senyawa untuk menghambat reaksi radikal bebas DPPH, yang berhubungan dengan konsentrasi ekstrak. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka semakin tinggi persentase peredaman terhadap radikal bebas DPPH yang dihasilkan. Aktivitas antioksidan suatu ekstrak dinyatakan dalam persentase peredaman terhadap radikal bebas DPPH. Parameter yang digunakan untuk aktivitas antioksidan ialah *Inhibitor Concentration 50* (IC50). IC50 merupakan nilai yang menggambarkan besarnya konsentrasi dari ekstrak uji yang dapat menangkap radikal bebas sebesar 50% yang dilakukan dengan membuat grafik hubungan antara konsentrasi senyawa uji sebagai sumbu-x dengan persentase (%) peredaman radikal bebas rata-rata sebagai sumbu-y dari seri replikasi pengukuran (Cheng and Prusoff, 1973 dalam Badarinath, 2010).

Ekstraksi sampel

Seratus gram serbuk yang telah halus diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96% sebanyak 5 liter (5 x 1 L). Maserasi dilakukan selama 24 jam sambil sesekali dilakukan pengadukan agar semua senyawa organik tertarik pada pelarut etanol 96%. Hasil maserasi disaring untuk mendapatkan filtrat dan residunya dimaserasi kembali dengan etanol, hal ini dilakukan sebanyak lima kali. Filtrat yang diperoleh dikumpulkan dan selanjutnya dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 60°C dengan kecepatan 100 rpm sampai didapatkan ekstrak kental etanol daun sembung (Hamdanah, 2015). Rendemen ekstrak yang diperoleh dihitung dengan menggunakan Persamaan 1.

$$\% \text{rendemen} = \frac{\text{massa ekstrak (g)}}{\text{massa serbuk (g)}} \times 100\% \dots\dots\dots(1)$$

Ekstrak kental etanol yang diperoleh selanjutnya dilarutkan dalam campuran etanol:air (7:3) dan diuapkan kembali, kemudian ekstrak air yang diperoleh dipartisi dengan n-heksana hingga jernih.

Pembuatan larutan standar kuersetin

Satu miligram kuersetin ditimbang dan dilarutkan dalam 10 mL etanol 50% sehingga didapatkan konsentrasi 100 ppm. Larutan standar kemudian dibuat variasi konsentrasi 0 ppm (tanpa penambahan sampel sebagai blanko), 4 ppm, 8 ppm, 12 ppm, 16 ppm, dan 20 ppm yang ditampung pada 6 tabung berbeda. Masing-masing variasi konsentrasi kemudian ditambahkan 500 μ L $AlCl_3$ dan diinkubasi selama 30 menit. Larutan standar ini diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 415 nm.

Analisis absorbansi ekstrak daun sembung hasil fraksinasi

Masing-masing fraksi sebanyak 0,1 gram dilarutkan ke dalam labu ukur 5 ml menggunakan etanol 50% dan disaring. Filtrat yang dihasilkan kemudian direaksikan dengan $AlCl_3$ dengan perbandingan 1:1 dengan cara 250 μ L fraksi dipipet dan ditambahkan 250 μ L etanol 50%. Fraksi tersebut dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 500 μ l larutan $AlCl_3$. Larutan selanjutnya dikocok hingga homogen dan didiamkan selama 30 menit. Pengukuran absorbansi kemudian dilakukan pada panjang gelombang 415 nm.

Pemisahan fraksi n-heksana daun sembung

A. Pemisahan dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Pemisahan dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) bertujuan untuk mencari eluen terbaik yang akan digunakan dalam pemisahan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) preparatif. Eluen terbaik merupakan cairan pengembang yang dapat memisahkan ekstrak dengan baik, ditandai dengan terbentuknya banyak noda pada permukaannya dan jarak noda yang satu dengan noda lainnya cukup jauh (lebih besar dari 0,5 mm).

Pertanyaan

1. Apakah yang dimaksud dengan IC_{50} ?
2. Ekstraksi adalah.....
3. Metode 1,1-dphenl-2-pcrylhydrazyl (DPPH) adalah.....
5. Apakah definisi ekstraksi ?

6. Apa maksud persen rendeman itu?
7. Mengapa harus difraksinasi?
8. Eluen adalah.....
9. Metode maserasi adalah
10. Apakah analisis absorbansi ekstrak itu?

BAB III

PENUTUP

Seratus gram daun sembung (*Blumea balsamifera* L) segar yang sudah dicuci bersih kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan tanpa terkena sinar matahari langsung dengan tujuan untuk menghindari terjadinya penguapan senyawa-senyawa aktif yang terkandung pada daun karena diduga merupakan senyawa yang mudah menguap (Harborne, 2006). Daun sembung kemudian dipotong kecil-kecil dan dihaluskan dengan blender hingga menghasilkan serbuk daun sembung. Tujuan dari penghalusan ini adalah agar luas permukaannya menjadi lebih besar sehingga semua senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada daun sembung terekstrak.

Penentuan Kadar Air

Penentuan kadar air merupakan salah satu karakteristik yang sangat penting dalam analisis sampel bahan alam karena merupakan parameter fisikokimia yang berhubungan langsung dengan stabilitas dan kualitas senyawa aktif dalam bahan alam selama proses penyimpanan. Hasil penentuan kadar air serbuk daun sembung berdasarkan hasil perhitungan, serbuk kering daun sembung memiliki persen rerata kadar air sebesar 8,58%. Hal ini menunjukkan bahwa kadar air dalam serbuk daun sembung telah memenuhi standar simplisia, dimana kadar air minimal yang memenuhi standar simplisia tidak boleh lebih dari 10% (Departemen Kesehatan RI, 1995). Kadar air yang berlebihan dapat menyebabkan mudahnya pertumbuhan mikroba dan hidrolisis senyawa aktif dalam simplisia.

Ekstraksi Daun Sembung

Seratus gram serbuk kering daun sembung yang dimaserasi menggunakan 5 liter pelarut etanol 96% (5 x 1 L) menghasilkan 10 gram ekstrak pekat etanol berwarna hijau kecokelatan melalui *rotary evaporator*. Ekstrak pekat etanol dilarutkan dalam etanol:air (7:3) dan diuapkan kembali sehingga menghasilkan ekstrak air. Ekstrak air ini di partisi dengan n-heksana, kloroform, dan etil asetat menghasilkan 4 macam fraksi seperti yang ditunjukkan pada Tabel 10.

Tabel 10 . Hasil Partisi Ekstrak Etanol dengan n-heksana, Kloroform, dan Etil asetat.

| Ekstrak pekat | Berat ekstrak (g) | Warna |
|---------------|-------------------|--------------------|
| n-heksana | 5,66 | Hijau pekat |
| Kloroform | 2,23 | Kuning kehijauan |
| Etil asetat | 0,85 | Kuning kecokelatan |
| Air | 1,14 | Merah bata |

Partisi menggunakan n-heksana bertujuan untuk melarutkan senyawa non-polar seperti aglikon, yaitu steroid, flavonoid bebas, terpenoid, minyak atsiri, lilin, dan lemak. Partisi dengan pelarut kloroform dapat menghilangkan klorofil yang mengganggu analisis sehingga fraksi kloroform berwarna kehijauan, dan etil asetat digunakan untuk melarutkan senyawa yang bersifat semi polar seperti alkaloid, flavonoid bebas, steroid, dan triterpen. Ekstrak air yang tersisa dari hasil partisi kemungkinan mengandung senyawa flavonoid glikosida, saponin, dan metabolit primer. Keempat ekstrak selanjutnya diuji keberadaan flavonoidnya.

Uji Flavonoid Ekstrak Hasil Partisi

Hasil uji flavonoid pada keempat ekstrak hasil partisi menggunakan pereaksi NaOH 10%, H₂SO₄, dan Mg-HCl ditunjukkan pada Tabel 11.

Tabel 11. Hasil Uji Flavonoid pada Masing-masing Ekstrak Hasil Partisi

| Ekstrak pekat | Pereaksi | Perubahan Warna | Keterangan |
|---------------|--------------------------------|-------------------------------------|------------|
| n-heksana | Mg-HCl | Hijau-kuning kecokelatan | + |
| | H ₂ SO ₄ | Hijau-kuning | |
| | NaOH 10% | Hijau-kuning | |
| Kloroform | Mg-HCl | Kuning kehijauan-cokelat kekuningan | - |
| | H ₂ SO ₄ | Kuning kehijauan-kuning kecokelatan | |
| | NaOH 10% | Kuning kehijauan-jingga keruh | |
| Etil asetat | Mg-HCl | Kuning kecokelatan-hijau kekuningan | + |
| | H ₂ SO ₄ | Kuning kecokelatan-kuning | |
| | NaOH 10% | Kuning kecokelatan-jingga kemerahan | |
| Air | Mg-HCl | Merah bata-jingga kekuningan | + |
| | H ₂ SO ₄ | Merah bata-jingga | |
| | NaOH 10% | Merah bata-merah pekat | |

Keterangan: + : mengandung flavonoid; - : tidak mengandung flavonoid

Tabel 10 menunjukkan bahwa ekstrak yang mengandung senyawa flavonoid adalah ekstrak n-heksana, ekstrak etil asetat, dan ekstrak air karena ketiga ekstrak tersebut menunjukkan perubahan warna yang spesifik ketika diuji dengan menggunakan pereaksi flavonoid. Perubahan warna pada ekstrak n- heksana menunjukkan hasil yang positif flavonoid dengan dugaan golongan flavon atau isoflavon, menandakan bahwa flavonoid yang terkandung dalam ekstrak n-heksana tersebut merupakan flavonoid bebas atau aglikon dengan dugaan memiliki gugus hidroksi yang sedikit karena larut dalam pelarut non polar (Andersen dan Markham, 2006). Hasil ini memiliki kesamaan dengan hasil dari penelitian Bohm, *et al.* (1992) yang menyatakan bahwa golongan flavon dapat larut dalam pelarut non-polar sebagai aglikon dengan gugus hidroksi yang sedikit atau memiliki gugus metoksi pada C-6 atau C-8.

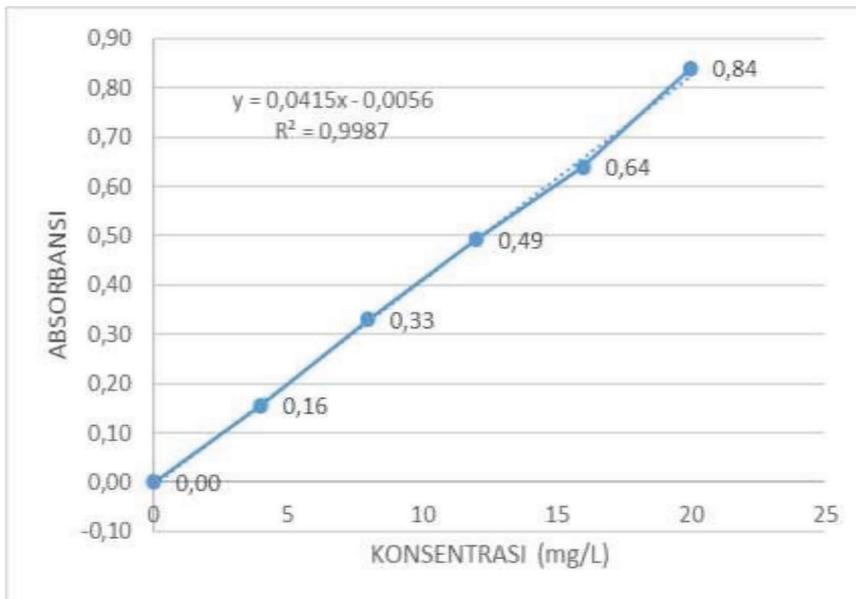
Pada ekstrak etil asetat dan ekstrak air diduga merupakan golongan flavonol dan flavononol dengan kemungkinan adanya ikatan gula (glikosida). Ekstrak kloroform diketahui negatif flavonoid karena kemungkinan lebih banyak mengandung klorofil dan xantofil dari daun (Harborne, 2006).

Penentuan Kadar Total Flavonoid Daun Sembung

Pengukuran kadar total flavonoid dilakukan terhadap keempat fraksi yang telah didapat dengan menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis dan Kuersetin sebagai standar yang dibuat dalam berbagai konsentrasi 0 – 20 mg/L. Kadar total flavonoid yang diperoleh dihitung berdasarkan persamaan regresi linier kurva standar Kuersetin yang dapat dilihat pada Gambar 7. Kurva standar Kuersetin menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi maka absorbansi juga semakin meningkat. Kurva standar Kuersetin memiliki persamaan garis linier $y = 0,0415x - 0,0056$ dengan koefisien regresi linier sebesar 0,9987.

Dari persamaan garis linier $y = 0,0415x - 0,0056$, dapat diperoleh konsentrasi masing-masing fraksi yang diplot pada sumbu-y. Perhitungan konsentrasi dan kadar total flavonoid masing-masing fraksi dapat dilihat pada Lampiran 5. Hasil perhitungan kadar total flavonoid masing-masing fraksi ditunjukkan pada Tabel 11.

| | | |
|------------------------|-------------------|---------------|
| Konsentrasi plot sb. x | Flavonoid Ekstrak | Absorbansi |
| (mg/L) | (%) | (mg QE/100 g) |



Gambar 7. Kurva Standar Kuersetin.

Tabel 11. Hasil Perhitungan Kadar Total Flavonoid setiap Fraksi.

| | Konsentrasi plot sb. x Flavonoid Ekstrak | | Absorbansi | |
|-------------|--|---------|---------------|---------|
| | (mg/L) | (%) | (mg QE/100 g) | |
| Air | 0,470 | 11,4602 | 1,29 | 1287,66 |
| n-heksana | 0,465 | 11,3398 | 1,56 | 1557,66 |
| Kloroform | 0,013 | 0,4482 | 0,01 | 12,23 |
| Etil asetat | 0,175 | 4,3518 | 0,22 | 219,34 |

Keterangan: QE: *Quercetin Equivalen*

Tabel 11 menunjukkan bahwa kadar total flavonoid paling tinggi ada pada fraksi n-heksana dengan kadar total flavonoid sebesar 1557,66 mg QE/100g, sehingga fraksi n-heksana yang dipilih untuk dilanjutkan ke tahap pemisahan/isolasi.

Pemisahan dan Pemurnian Senyawa Golongan Flavonoid

Hasil pemisahan dengan kromatografi lapis tipis (KLT)

Pemisahan dengan kromatografi lapis tipis (KLT) bertujuan untuk menentukan fase gerak (eluen) terbaik yang selanjutnya dapat digunakan pada tahap isolasi dengan KLT preparatif. Penentuan eluen terbaik dilakukan dengan menggunakan metode *trial and error* dengan mencoba

beberapa perbandingan campuran pelarut sesuai pustaka atau referensi yang telah didapat.

Eluen terbaik merupakan fase gerak yang memberikan jumlah noda pemisahan terbanyak pada kromatogram dan memiliki pola pemisahan yang paling baik diantara fase gerak lainnya.

Tabel 12. Hasil Pemisahan Komponen Ekstrak n-heksana dengan KLT.

| No. | Fase Gerak | Jumlah noda | Harga Rf | Keterangan |
|------|--------------------------------|-------------|----------|--------------------------|
| 1. | n-heksana:etil asetat (8:2) | 4 | 0,17 | Pemisahan kurang baik |
| | | | 0,35 | |
| | | | 0,56 | |
| | | | 0,67 | |
| 2 | n-heksana:dietil eter (6:4) | 4 | 0,37 | Pemisahan kurang baik |
| | | | 0,46 | |
| | | | 0,67 | |
| | | | 0,76 | |
| 3 | n-heksana:dietil eter (7:3) | 7 | 0,20 | Pemisahan terbaik |
| | | | 0,33 | |
| | | | 0,50 | |
| | | | 0,56 | |
| | | | 0,66 | |
| | | | 0,74 | |
| 0,87 | | | | |

Tabel 12 menunjukkan bahwa ekstrak n-heksana dapat dipisahkan dengan baik menggunakan fase gerak n-heksana:dietil eter (7:3) karena fase gerak ini menghasilkan noda pemisahan terbanyak dan pemisahan yang ditunjukkan relatif lebih baik dibandingkan dengan campuran pelarut lainnya, sehingga fase gerak n-heksana:dietil eter (7:3) digunakan sebagai eluen untuk tahap pemisahan ekstrak n-heksana dengan KLT preparatif.

Hasil pemisahan dengan kromatografi lapis tipis (KLT) preparatif

Hasil pemisahan ekstrak n-heksana dengan kromatografi lapis tipis (KLT) preparatif menggunakan fase diam silika gel yang berukuran 20 x 20 cm dengan ketebalan penjerap 0,5-2 mm dan fase gerak (n-heksana:dietil eter = 7:3) menghasilkan 12 noda berupa pita (fraksi/eluat) dengan bantuan lampu UV 254 nm dan 366 nm.

Tabel 13. Hasil pemisahan ekstrak n-heksana dengan KLT preparatif.

| Fraksi | Berat (g) | Warna Noda | Harga Rf |
|--------|-----------|---------------|----------|
| F1 | 1,6398 | Ungu | 0,100 |
| F2 | 0,9711 | Abu kehijauan | 0,139 |
| F3 | 1,9791 | Hijau | 0,189 |
| F4 | 2,1654 | Kuning | 0,228 |
| F5 | 1,2861 | Merah | 0,428 |
| F6 | 1,3653 | Merah | 0,511 |
| F7 | 2,3265 | Merah | 0,639 |
| F8 | 1,2564 | Oranye | 0,683 |
| F9 | 1,6866 | Biru | 0,711 |
| F10 | 2,2356 | Oranye | 0,744 |
| F11 | 2,6343 | Oranye | 0,850 |
| F12 | 1,1934 | Kuning pucat | 0,944 |

Tabel 13 menunjukkan bahwa pemisahan dengan KLT preparatif menghasilkan 12 noda (fraksi) dimana hasil ini berbeda dari hasil pemisahan dengan KLT, hal ini dapat disebabkan oleh perbedaan ketebalan penjerap (*silica gel*) sehingga jumlah komponen yang dapat dipisahkan oleh KLT terbatas karena memiliki ketebalan penjerap yang lebih kecil daripada KLT preparatif (Heftmann, 2004). Keduabelas fraksi ini selanjutnya diskriming kembali untuk mengetahui fraksi yang mengandung senyawa flavonoid dengan menggunakan beberapa pereaksi.

Tabel 14. Hasil Uji Flavonoid Fraksi Hasil KLT Preparatif

| Fraksi | Pereaksi | Perubahan Warna | Keterangan |
|--------|----------------------|--|------------|
| F1 | NaOH 10% | Hijau muda menjadi kuning keruh | ++ |
| | Mg-HCl | Hijau muda menjadi kuning | |
| | Pb-asetat 10% | Terdapat endapan kuning | |
| | FeCl ₃ 5% | Hijau muda menjadi kecokelatan | |
| F2 | NaOH 10% | Tidak berwarna menjadi putih keruh | - |
| | Mg-HCl | Tidak terjadi perubahan warna | |
| | Pb-asetat 10% | Tidak terjadi perubahan warna | |
| | FeCl ₃ 5% | Tidak berwarna menjadi kuning keemasan | |
| F3 | NaOH 10% | Hijau muda menjadi hijau kekuningan | + |
| | Mg-HCl | Hijau muda menjadi biru | |
| | Pb-asetat 10% | Terdapat endapan kuning | |
| | FeCl ₃ 5% | Hijau muda menjadi kuning-oranye | |

| Fraksi | Pereaksi | Perubahan Warna | Keterangan |
|--------|----------------------|--|------------|
| F4 | NaOH 10% | Hijau kekuningan menjadi kuning muda | +++ |
| | Mg-HCl | Hijau kekuningan menjadi krem | |
| | Pb-asetat 10% | Terdapat endapan kuning | |
| | FeCl ₃ 5% | Hijau kekuningan menjadi kecokelatan | |
| F5 | NaOH 10% | Hijau tua menjadi hijau kekuningan | - |
| | Mg-HCl | Hijau tua menjadi kuning keruh | |
| | Pb-asetat 10% | Menjadi bening dengan endapan hijau | |
| | FeCl ₃ 5% | Hijau tua menjadi hijau kekuningan | |
| F6 | NaOH 10% | Hijau menjadi hijau kekuningan | - |
| | Mg-HCl | Hijau menjadi kuning keruh | |
| | Pb-asetat 10% | Hijau menjadi putih keruh | |
| | FeCl ₃ 5% | Hijau menjadi kuning | |
| F7 | NaOH 10% | Hijau menjadi kuning muda | - |
| | Mg-HCl | Hijau menjadi kuning | |
| | Pb-asetat 10% | Menjadi bening dengan endapan hijau | |
| | FeCl ₃ 5% | Hijau menjadi kuning | |
| F8 | NaOH 10% | Tidak berwarna menjadi bening | - |
| | Mg-HCl | Tidak terjadi perubahan warna | |
| | Pb-asetat 10% | Tidak berwarna menjadi putih keruh | |
| | FeCl ₃ 5% | Tidak berwarna menjadi kuning | |
| F9 | NaOH 10% | Tidak berwarna menjadi putih keruh | - |
| | Mg-HCl | Tidak terjadi perubahan warna | |
| | Pb-asetat 10% | Tidak berwarna menjadi putih keruh | |
| | FeCl ₃ 5% | Tidak berwarna menjadi kuning keemasan | |
| F10 | NaOH 10% | Tidak berwarna menjadi putih keruh | - |
| | Mg-HCl | Tidak terjadi perubahan warna | |
| | Pb-asetat 10% | Tidak terjadi perubahan warna | |
| | FeCl ₃ 5% | Tidak berwarna menjadi kuning | |
| F11 | NaOH 10% | Tidak berwarna menjadi putih keruh | - |
| | Mg-HCl | Tidak terjadi perubahan warna | |
| | Pb-asetat 10% | Tidak terjadi perubahan warna | |
| | FeCl ₃ 5% | Tidak berwarna menjadi kuning | |
| F12 | NaOH 10% | Tidak berwarna menjadi putih keruh | - |
| | Mg-HCl | Tidak terjadi perubahan warna | |
| | Pb-asetat 10% | Tidak berwarna menjadi putih keruh | |
| | FeCl ₃ 5% | Tidak berwarna menjadi kuning keemasan | |

Keterangan : - : tidak ada flavonoid; + : ada flavonoid sedikit; ++ : ada flavonoid cukup banyak; +++ : ada flavonoid banyak.

Tabel 15 menunjukkan bahwa fraksi yang positif mengandung senyawa flavonoid adalah fraksi F1, F3, dan F4, serta berdasarkan perubahan warna yang dihasilkan pada uji flavonoid, maka diduga senyawa flavonoid yang terkandung

secara berturut-turut adalah isoflavon, flavanon, dan flavon karena menurut Geissman (1962) ciri karakteristik dari senyawa isoflavon secara kualitatif ditunjukkan dengan terjadinya perubahan warna dari hijau muda menjadi kuning dengan pereaksi NaOH 10% dan menghasilkan warna kuning dengan pereaksi Wilstatter, ciri karakteristik dari senyawa flavanon secara kualitatif ialah dengan munculnya warna biru dengan pereaksi Wilstatter, sedangkan ciri karakteristik senyawa flavon secara kualitatif menunjukkan perubahan warna dari hijau menjadi kuning dengan NaOH 10% dan menghasilkan warna kuning-merah (krem) dengan pereaksi Wilstatter. Ketiga fraksi ini selanjutnya diuji kemurniannya secara kromatografi lapis tipis (KLT) dengan berbagai macam eluen yang polaritasnya berbeda.

Uji kemurnian dengan kromatografi lapis tipis (KLT)

Hasil uji kemurnian ketiga fraksi (F1, F3, dan F4) secara KLT dengan menggunakan berbagai macam eluen.

Tabel 15. Hasil KLT Uji Kemurnian

| Fase gerak | Jumlah noda | | | Harga Rf | | |
|------------------------------|-------------|-----------|-----------|-----------------|---------------------------|-----------|
| | Fraksi F1 | Fraksi F3 | Fraksi F4 | Fraksi F1 | Fraksi F3 | Fraksi F4 |
| n-heksana: etil asetat (8:2) | 1 noda | 2 noda | 1 noda | 0,141 | 0,082; 0,282 | 0,317 |
| n-heksana: dietil eter (6:4) | 1 noda | 2 noda | 1 noda | 0,176 | 0,176; 0,294 | 0,306 |
| n-heksana: etil asetat (7:3) | 2 noda | 2 noda | 1 noda | 0,518; 0,941 | 0,612; 0,800 | 0,765 |
| n-heksana: etil asetat (3:1) | 2 noda | 3 noda | 1 noda | 0,176; 0,447 | 0,341; 0,494; 0,576 | 0,682 |

Berdasarkan hasil uji kemurnian yang ditunjukkan pada Tabel 15, dapat diketahui bahwa hanya fraksi F4 yang sudah cukup murni secara KLT dimana terdapat 1 noda pada kromatogram dengan menggunakan berbagai macam eluen. Sementara dua fraksi lainnya (F1 dan F3) belum cukup murni secara KLT karena menghasilkan 2 – 3 noda pada kromatogram sehingga fraksi F4 yang dipilih untuk dilanjutkan ke tahap rekristalisasi untuk membersihkan sisa-sisa zat pengotor sehingga diperoleh isolat.

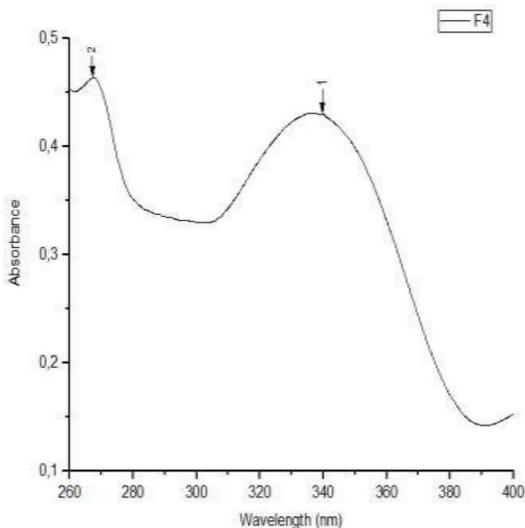
Rekristalisasi fraksi hasil KLT Preparatif

Fraksi F4 dari hasil KLT preparatif direkristalisasi dengan melarutkan fraksi F4 dalam metanol dan dipanaskan selama kurang lebih 2 menit. Fraksi yang sudah dipanaskan disaring dalam keadaan panas dimana filtratnya kemudian didinginkan dalam *ice bath* dan dinding gelas Beaker diketuk-ketuk menggunakan batang pengaduk untuk memancing terbentuknya kristal. Kristal yang diperoleh berupa serbuk kecil berwarna hijau pekat sebanyak 0,09 g. Kristal ini, selanjutnya disebut isolat diidentifikasi secara spektrofotometri untuk menentukan golongan flavonoidnya dengan pereaksi geser dan gugus fungsinya.

Identifikasi Isolat

Identifikasi dengan Spektrofotometer UV-Vis

Hasil identifikasi isolat dengan spektrofotometer UV-Vis seperti ditunjukkan pada Gambar 9, menunjukkan bahwa isolat memiliki 2 pita serapan yaitu pada panjang gelombang 267,60 nm yang merupakan pita II dan serapan pada panjang gelombang 339,70 nm yang merupakan pita I. Hasil identifikasi dengan UV-Vis memperkuat dugaan dari hasil skrining flavonoid bahwa isolat adalah senyawa flavonoid golongan flavon, karena menurut Markham (1988) senyawa flavonoid golongan flavon memberikan rentangan serapan pada panjang gelombang 250-280 nm pada pita II dan 310-350 nm pada pita I, serta senyawa flavon pada kerangka dasarnya mempunyai gugus fungsi C=C aromatik, gugus C=O dan C-O eter.



Gambar 8. Spektra UV-Vis dari Isolat.

Pola oksigenasi dari senyawa flavonoid yaitu dugaan letak gugus hidroksi (OH) bebas pada kerangka flavon dapat ditentukan dengan penambahan pereaksi geser seperti NaOAc, AlCl₃, dan AlCl₃/HCl. Data pergeseran panjang gelombang setelah penambahan pereaksi geser ditunjukkan pada Tabel 16.

Tabel 16. Data Panjang Gelombang dan Pergeseran Panjang Gelombang Isolat F4 setelah Ditambahkan Pereaksi Geser.

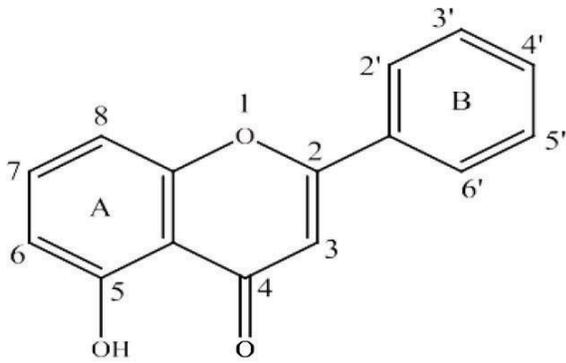
| Pereaksi Geser | Panjang gelombang λ_{maks} (nm) | | Geseran panjang gelombang λ_{maks} (nm) | |
|----------------------------------|--|---------|--|---------|
| | Pita I | Pita II | Pita I | Pita II |
| Etanol | 339,70 | 267,60 | - | - |
| Etanol + NaOAc | 393,20 | 266,70 | +53,50 | -0,90 |
| Etanol + AlCl ₃ | 340,30 | 274,90 | +0,60 | +7,30 |
| Etanol + AlCl ₃ + HCl | 340,20 | 274,00 | +0,50 | +6,40 |

Pergeseran serapan pada pita II mempengaruhi pola oksigenasi pada cincin A sedangkan pergeseran serapan pada pita I mempengaruhi pola oksigenasi pada cincin B. Tabel 4.8 menunjukkan adanya pergeseran batokromik pada pita I sebesar 53,50 nm setelah ditambahkan NaOAc. Hal ini menunjukkan adanya gugus hidroksi pada C-4' (Ekawati, 2017) dan pergeseran hipsokromik pada pita II menunjukkan tidak adanya gugus hidroksi pada C-7 (Markham, 1988). Terjadinya pergeseran batokromik pada kedua pita setelah penambahan pereaksi geser AlCl₃ menunjukkan terdapat gugus hidroksi pada C-5 yang membentuk kompleks antara gugus keton dan AlCl₃. Adanya penurunan intensitas (penguraian) setelah ditambahkan asam atau pereaksi geser HCl menunjukkan adanya gugus orto-dihidroksi pada cincin B di nomor atom C-3' dan C-4' (Markham, 1988). Spektra masing-masing pergeseran dapat dilihat pada Lampiran 14. Berdasarkan data pergeseran pada Tabel 4.8 dapat diketahui dugaan struktur senyawa flavonoid pada isolat seperti ditunjukkan pada Gambar 16.

Identifikasi dengan FTIR

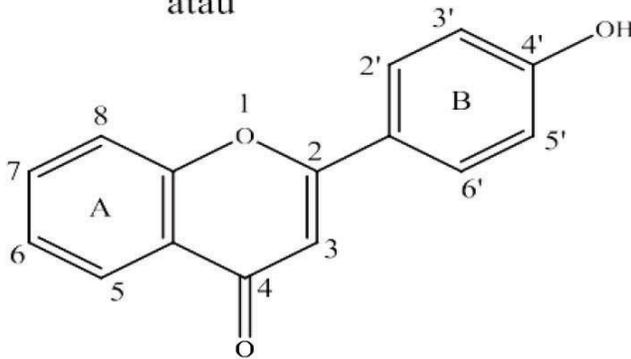
Hasil spektrum inframerah isolat ditunjukkan pada Gambar 17 dan data bilangan gelombang, bentuk pita, dan dugaan gugus fungsi dipaparkan pada Tabel 17.

Berdasarkan analisis spektrum inframerah seperti ditunjukkan pada Gambar 4.4 dan Tabel 4.9 menunjukkan adanya gugus -OH bebas dengan bentuk pita tajam dan intensitas lemah pada daerah bilangan gelombang 3433,64 cm⁻¹ dan didukung dengan adanya vibrasi tekuk C-O alkohol pada daerah bilangan



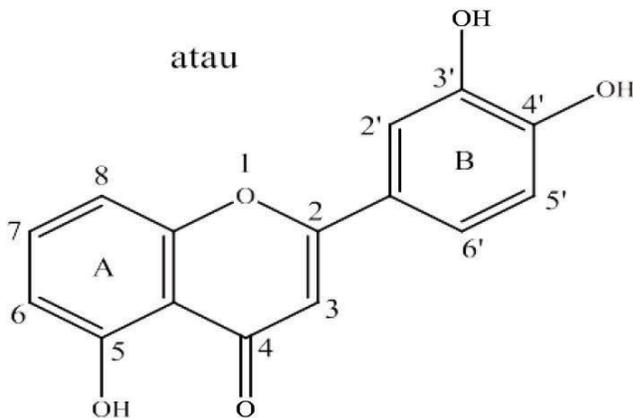
(5-hidroksi flavon)

atau



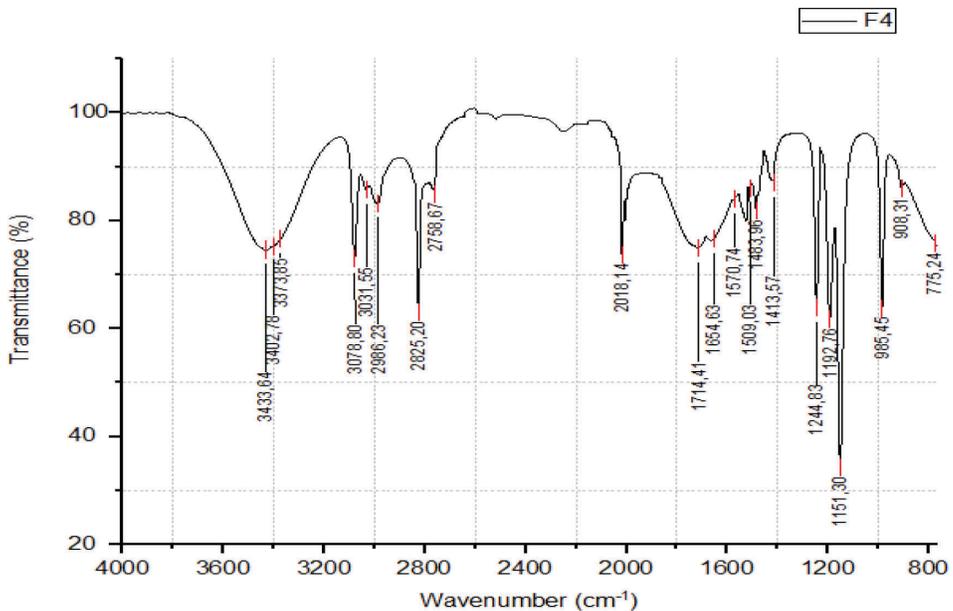
(4'-hidroksi flavon)

atau



(5,3',4'-trihidroksi flavon)

Gambar 9. Diindikasi Struktur Senyawa Flavonoid



Gambar 10. Spektrum Inframerah dari Isolat.

gelombang $1151,30 \text{ cm}^{-1}$. Kedua serapan tersebut memperkuat dugaan adanya gugus -OH yang terikat pada atom karbon (Silverstein *et al.*, 1986).

Serapan lemah dengan bentuk pita tajam pada daerah bilangan gelombang $1509,03 \text{ cm}^{-1}$ menunjukkan adanya gugus C=C aromatik (Sastrohamidjojo, 1996). Pita serapan lemah dengan bentuk pita melebar pada bilangan gelombang $1714,41 \text{ cm}^{-1}$ mengindikasikan adanya serapan dari gugus karbonil (C=O) sebagai ciri umum senyawa flavonoid (Andersen dan Markahm, 2006), dan serapan pada daerah bilangan gelombang $1192,76 \text{ cm}^{-1}$ dengan bentuk pita tajam menunjukkan adanya gugus C-O eter (Sastrohamidjojo, 1996).

Berdasarkan hasil identifikasi dengan menggunakan FTIR diduga isolat mengandung gugus-gugus fungsi seperti -OH, C-O alkohol, C=C aromatik, C=O, dan C-O eter dimana gugus-gugus fungsi ini merupakan gugus fungsi yang dimiliki senyawa flavon, sehingga mendukung hasil identifikasi dengan spektrofotometer UV-Vis bahwa isolat yang diperoleh berupa senyawa flavon.

Uji Aktivitas Antioksidan Isolat

Pengukuran aktivitas antioksidan isolat dilakukan dengan metode DPPH secara spektrofotometri. DPPH merupakan senyawa radikal bebas yang larut dalam pelarut alkoholik seperti metanol. Penggunaan metode DPPH dapat

Tabel 17. Data Spektrum Inframerah.

| No. | Bilangan Gelombang (cm ⁻¹) | | Bentuk Pita | Dugaan Gugus Fungsi |
|-----|--|-------------|-------------|---------------------|
| | Isolat | Pustaka * | | |
| 1. | 3433,64 | 3500 – 3000 | Tajam | O-H bebas |
| 2. | 1714,41 | 1900 – 1650 | Melebar | C=O regang |
| 3. | 1509,03 | 1675 – 1500 | Tajam | C=C aromatik regang |
| 4. | 1192,76 | 1250 – 1100 | Tajam | C-O eter |
| 5. | 1151,30 | 1250 – 1050 | Tajam | C-O alkohol |

*sumber : Sastrohamidjojo (1996); Silverstein *et al.* (1986)

mendeteksi kemampuan antiradikal suatu senyawa dengan hasil lebih akurat, reliabel, relatif cepat dan praktis (Trifena, 2012). Aktivitas antioksidan dinyatakan dengan nilai IC₅₀ (*Inhibitory Concentration 50*), yaitu konsentrasi larutan sampel yang dibutuhkan untuk menghambat 50% radikal bebas (Dungir *et al.*, 2012).

Reaksi yang terjadi antara larutan uji dengan DPPH ditunjukkan dengan berubahnya warna larutan DPPH dari ungu menjadi kuning. Meskipun tidak semua larutan uji mengalami perubahan warna menjadi kuning setelah direaksikan, namun saat pengukuran absorbansinya terjadi penurunan absorbansi DPPH. Hal ini menunjukkan konsentrasi DPPH yang bersifat radikal telah mengalami penurunan akibat donor H radikal pada DPPH oleh senyawa antioksidan.

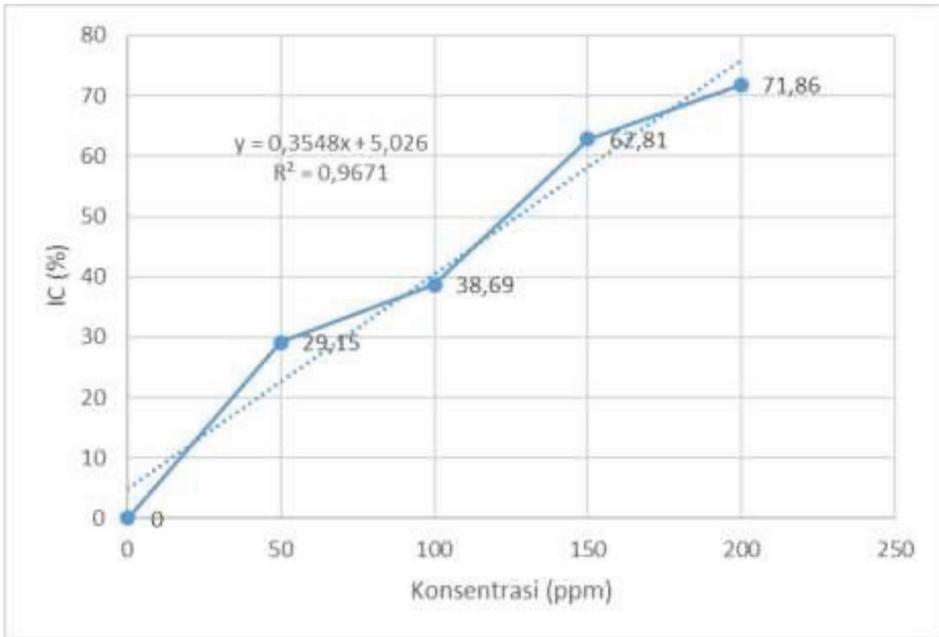
Hasil absorbansi larutan uji yang telah diukur, selanjutnya digunakan dalam perhitungan % inhibisi masing-masing konsentrasi larutan uji seperti yang ditunjukkan pada Tabel 18.

Tabel 18. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Isolat

| Sampel | Konsentrasi (ppm) | Abs blanko | Abs larutan uji | % inhibisi larutan uji | Persamaan linier | IC ₅₀ (ppm) |
|--------|-------------------|------------|-----------------|------------------------|--|------------------------|
| Isolat | 50 | | 0,423 | 29,15 | y = 0,3548x + 5,026 R ² = 0,9671 | 126,76 |
| fraksi | 100 | 0,597 | 0,366 | 38,69 | | |
| | 150 | | 0,222 | 62,81 | | |
| F4 | 200 | | 0,168 | 71,86 | | |

Keterangan: Abs = Absorbansi.

Dengan diketahuinya % inhibisi masing-masing konsentrasi larutan uji, maka dapat dibuat hubungan konsentrasi sampel dengan % inhibisi dalam bentuk grafik linier, konsentrasi sampel diplot sebagai sumbu-x dan % inhibisi diplot sebagai sumbu-y. Kurva hubungan konsentrasi larutan uji dengan % inhibisi ditunjukkan pada Gambar 10.



Gambar 11. Kurva Hubungan Konsentrasi Isolat dengan % Inhibisi

Berdasarkan Gambar 8, dapat diperoleh nilai IC₅₀ sampel dengan cara menggunakan persamaan regresi linier ($y = 0,3548x + 5,026$), dimana nilai x adalah konsentrasi larutan sampel yang dibutuhkan untuk menghambat 50% radikal bebas dan nilai y disubstitusi menjadi 50. Nilai IC₅₀ dari isolat murni ialah sebesar 126,76 ppm yang menurut Tristantini *et al.* (2016) merupakan senyawa antioksidan dengan kapasitas sedang.

BAB IV

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian terhadap ekstrak etanol daun Sembung yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa :

1. Ekstrak n-heksana dari daun sembung memiliki kadar total flavonoid tertinggi sebesar 1557,66 mg QE/100 g.
2. Flavonoid yang terkandung dalam isolat ekstrak etanol daun sembung diduga merupakan flavonoid golongan flavon yaitu 5-hidroksi flavon, 4'-hidroksi flavon, atau 5,3',4'-trihidroksi flavon.
3. Senyawa aktif flavonoid dalam daun Sembung (*Blumea balsamifera* L) dapat menurunkan kadar glukosa darah sampai 80 % (Dari 429 mg/dL menjadi 90 mg/dL)
4. Kapasitas antioksidan dari isolat flavonoid ekstrak etanol daun sembung termasuk dalam kapasitas sedang dengan nilai IC50 sebesar 126,76 ppm.

Saran

1. Perlu dilakukan analisis lebih lanjut untuk memperoleh struktur sebenarnya dari isolat (senyawa flavon) dengan menggunakan NMR untuk mengetahui jumlah atom hidrogen dan karbonnya, dan menggunakan MS untuk mengetahui massa molekul relatifnya.
2. Fraksi F1 dan F3 dari hasil pemisahan KLT Preparatif perlu dianalisis lebih lanjut karena kedua fraksi tersebut positif flavonoid.

DAFTAR PUSTAKA

- Almey, A., Khan, A.J., Zahir S., Suleiman M., and Aisyah R.K. 2010. Total Phenolic Content and Primary Antioxidant Activity of Methanolic and Ethanolic Extract of Aromatic Plants' Leaves. *International Food Research*. 17: 1077-1088.
- Aguilar, N.O.,1999., *Blumea balsamifera* (L) DC. Bogor. PROSEA (*Plant Resources of South-East Asia*) Foundation.
- Andersen, O.M., and Markham, K.R. 2006. *Flavonoids: Chemistry, Biochemistry, and Applications*. Taylor & Francis Group Ltd. New York.
- Arief, S. 2006. *Radikal Bebas*. Bagian Ilmu Kesehatan Anak FK Unair / RS. Dr. Sutomo. Surabaya.
- Arsyad, M.N. 2001. *Kamus Kimia Arti dan Penjelasan Istilah*. Gramedia. Jakarta.
- Arjadi F, Mustofa.,2017. *Ekstrak Daging BuahMahkota Dewa Meregenerasi Sel Pulau Langerhans PadaaTikus PutihDiabete*.Jurnal Ilmiah Biologi Biogenesis. 5(1):27 – 33.
- Badarinath A., Rao K., Chetty CS., Ramkanth S., Rajan T., and Gnanaprakash K. A. 2010. Review on In-vitro Antioxidant Methods: Comparisons, Correlations, and Considerations. *International Journal of PharmTech Research*. 2(2): 1276-1285.
- Balancod, TD., Valejjo,V.L.,Patacsit, M., Apostol, O., Luran, L.M.V.A.,Manuel, J., Cortez, S.,dan Gutierrez, R.M.2012.Phytochemical Screening and Antibacterial Activity of selected Medicinal Plants of Bayabas, Sablan, Benguet province, Cordillera Administrative Region Luzon. Philippines:*Indian Journal of Traditional Knowledge*. 11(4): 580 –585
- Bohm, B.A., Fong, C., Hiebert, M., Jamal, A., Crins, W.J. 1992. Non-polar flavonoids of *Calycadenia*, *Lagophylla*, and *Madia*. *Phytochemistry*. 31(4): 1261-1263.
- Butler AE, Janson J,Bonner-Weir S, Ritzel R, Rizza RA, Butler PC. β -cell deficit and increased β -cell apoptosis in with type 2 diabetes,*Diabetes*.2003.,52: 102-110
- Dungir, S.G., Dewa G., Katja, dan Vanda S. 2012. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Bubuk Simplisia Kulit Manggis (*Gascinia mangostana* L.). *Jurnal Mipa Unsrat*. 1(1): 11-15.

- Ekawati, M.A., Suirta, I.W., dan Santi, S.R. 2017. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid Pada Daun Sembukan (*Paederia foetida* L) Serta Uji Aktivitasnya Sebagai Antioksidan. *Jurnal Kimia*. 11(1): 43-48.
- Eswaraiah, M.C., Rahman, H., and Vakati, K. 2012. In-Vivo and In-Vitro AntiInflammatory Activity of Aquilaria agallocha Oil. *International Journal of Basic Medical Sciences and Pharmacy (IJBMS)*. 2 (1): 7-10.
- Fessenden, R. J., dan Fessenden, J. S. 2003. *Dasar-dasar Kimia Organik*. a.b. Aloysius Hadyana Pudjaatmaka. Penerbit Erlangga. Jakarta.
- Geissman, T.A. 1962. *The Chemistry of Flavonoid Compounds*. The Mac Millan Company. New York.
- Griffiths, P.R. 1975. *Chemical Infrared Fourier Transform Spectroscopy*. John Wiley & Sons. New York.
- Griffiths, P.R. and Chalmers, J.M. 2002. *Handbook of Vibrational Spectroscopy*. John Wiley & Sons. New York.
- Gritter, R.J., Bobbit, J.M., dan Swharting, A.E. 1991. *Pengantar Kromatografi. Edisi Kedua*. a.b. Kosasih Padmawinata. Penerbit ITB. Bandung.
- Halliwell, B. and Gutteridge, J.M.C. 2007. *Free Radicals in Biology and Medicine. 4th Edition*. Oxford University Press. New York.
- Hamdanah, S., Anam, dan S., Jamaluddin. 2015. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid Dari Ekstrak Etanol Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *Journal of Pharmacy*. 1(1): 22-34.
- Harborne, J.B. 2006. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. a.b. Kokasih Padmawinata & Iwang Soediro. Penerbit ITB. Bandung.
- Hariana.,2014. *Tumbuhan Obat danKhasiatnya 3*.Penebar Swadaya. Jakarta
- Heftmann, E. 2004. *Chromatography 6th edition, Fundamentals and Application of Chromatography and Related Differential Migration Methods*. Elsevier Scientific Publishing Company. Amsterdam.
- Heinrich, M., Barnes, J., Gibbson, S., and Williamson, M.E. 2010. *Fundamental of Pharmacognosy and Phytotherapy*. Elsevier. Hungary.
- Hernani dan Mono Raharjo. 2005. *Tanaman Berkhasiat Antioksidan*. Penerbit Swadaya. Jakarta.
- Hecto Henrique, Ferreira koolen,Clecio Fernando klotzke, Joebinkly, Jeffrey Patrick. AnaCecillia Rizatti deAlbergiria-Barbosan, Rolf Roland Weber, Marcia caruso Bicega, Marcos Nogueira erbelin, Giovanna Anceski BatagliOn.,2018. Gas Chromatografi coupled to High Resolution Time-

off-flight Mass Spectrometry as a High throughput tool for characterizing Geochemical Biomarker in Sediment, *International Journal of Analytical Chemistry*

- Hostettmann, K., Hostettman, M., MD, dan Marston A. 1995. *Cara Kromatografi Preparatif Penggunaan pada Isolasi Senyawa Alam*. a.b. Kosasih Padmawinata. ITB. Bandung.
- Husna., F.Suyatna.,f.D.,Arozal, W.,Purwaningsih, F.H.2019.Model hewan coba pada penelitian diabetes.Pharmaceutical Science and Research,6(3), 1.
- Jack. 2012. Synthesis of Antidiabetic Flavonoids and Their Derivative. *Medical Research*. 180.
- Janshen, Y.R. 2017. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Gaharu (*Aquilaria malaccensis* Lamk.) Terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Teknobiologi UAJY*. 17(2): 19-36.
- Kinbo,J.,Arini, D.I.D.,Halawane,J.,Nurani, L.,Halidah,Kafiar, Y., dan Karundeg, M.C.2011,*Tambahan Obat Tradisional di Sulawesi Selatan Jidid II*. Balai Penelitian Kehutanan Menado, Menado
- Kumalaningsih, S. 2006. *Antioksidan Alami Penangkal Radikal Bebas, Sumber, Manfaat, Cara Penyediaan, dan Pengolahan*. Trubus Agrisarana. Surabaya.
- Lee, D.G.,Mok, S., Choi,C.,Cho,E.J.,Kim, H.Y.,dan Lee,. 2012. Analysis of Apigenin In *Blumea balsamifera* Linn DC.and Its Inhibitory Activity Against Aldose Reduktase In Rat Lens. *Journal of Agricultural Chemistry and Environment*,1 (1):28-33
- Mabry, T.J., Markham, K.R., and Thomas, M.B. 1970. *The Systematic and Identification of Flavonoid*. Springer-Verlag. Berlin.
- Markham, K.R. 1988. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. a.b. Kosasih Padmawinata. Penerbit ITB. Bandung.
- Mega, I.M. dan Swastini, D.A. 2010. Skrining Fitokimia dan Aktivitas Antiradikal Bebas Ekstrak Metanol Daun Gaharu (*Gyrinops versteegii*). *Jurnal Kimia*. 4(2): 187-192.
- Moelyono, M.W. 1996. *Panduan Praktikum Analisis Fitokimia*. Laboratorium Farmakologi Jurusan Farmasi FMIPA. Universitas Padjajaran. Bandung.
- Mulyadi, P. 2012. Penelusuran Senyawa Antioksidan pada Ekstrak Daun Gaharu (*Gyrinops versteegii*) dengan Metode DPPH (Difinilpikril Hidrazil). *Skripsi*. Universitas Udayana. Denpasar.
- Mulyaningsih, T., and Isamu Y. 2007. *Notes on Some Species of Agarwood in Nusa Tenggara, Celebes and West Papua*. <http://sulawesi.cseas.kyotou>.

- ac.jp/ final_reports2007/article/43-tri.pdf. Diakses pada 22 Maret 2019..
- Blumea balsamifera –A Phytochemical and Pharmacological Review., *Journal Molecules*. 19 (1): 9453 – 9477.
- Mulyani WRW, Sanjiwani D.M, Sandra, Prabawa IPY, Lestari AAW, Wihandani D.M, et.al., *Chaperone-Based Therapeutic Target Innovation: Heat Shock Protein 70 (HSP70) for Type 2 Diabetes Mellitus. Diabetes Metab Syndr obes.* 2020;13:559-568
- Pang, Y., Wang, D., Fan Z., Chen, X., Yu, F., Hu, X., Wang, K., dan Yuan, L., 2014 Blumea balsamifera –A phytochemical and Pharmacological Review. *Journal Molecules*, 19 (1): 9453 - 9477
- Parwata, I.M.O.A. 2015. Karakteristik dan Kapasitas Antioksidan Daun Gaharu (*Gyrinops versteegii*). *Laporan Penelitian Jurusan Kimia. Universitas Udayana. Jimbaran.*
- Panjuantiningrum, Feranose., 2009. Pengaruh Pemberian Buah Naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) terhadap kadar glukosa darah tikus putih yang diinduksi aloksan. *Skripsi Universitas Sebelas Maret.*
- Parwata, I.M.O.A., Manuaba, I.B.P., Suirtayasa, I.W.P., and Wita, I.W. 2016. Gaharu Leaf Water Extract Reduce MDA and 8-OHdG Levels and Increase Activities of SOD and Catalase in Wistar Rats Provided Maximum Physical Activity. *Bali Madical Journal (Bali Med J)*. 5(3): 79-83.
- Parwata, I.M.O.A., Sukardiman, M.H.S., and Widhiartini, A. 2016. Inhibition of Fibrosarcoma Growth by 5-Hydroxy-7-Ethoxy-Flavanons from *Kaempferia pandurata* Roxb. *Biomedical & Pharmacology Journal*. 9(3): 941-948.
- Parwata, I.M.O.A., Manuaba, P., and Yasa, S. 2018. The Potency of Flavonoid Compounds in water Extract *Gyrinops versteegii* Leaves as Natural Antioxidants Sources. *Biomedical and Pharmacology Journal*. 11(3): 1501- 1511.
- Pham-Huy LA, He H., and Pham-Huy C. 2009. Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health. *International Journal of Biomedical Science*. 4(2): 89-96
- Prayoga G. 2013. Fraksinasi, Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH dan Identifikasi Golongan Senyawa Kimia dari Ekstrak Teraktif Daun Sambang Darah (*Excoecaria cochinchinensis* L). *Skripsi. Universitas Indonesia. Jakarta.*

- Plazonik.,F.Bucar,Z.,Males, A.,B.Nigovic.,and N.Kujundzic.,2009. Identification and quantification of Flavonoid and Phenolic Acids in Burn Parsley (*Caucalis platycarpor* L)using High performance liquid chromatography with diode array detection and electrospray ionization massspectrometry molecule., Vol14. Hal:2466-2490
- Raharjo,S.S.,dan Wilson, L.M.2016. Review Tanaman Sembung (*Blumea balsamifera* L). *Prosiding*. Seminar Nasional Tumbuhan Obat Indonesia ke-50. Samarinda. 3: 18-28
- Robinson, T. 1991. *Kandungan Organik Tumbuhan Obat Tinggi*. a.b. Kosasih Padmawinata. *Edisi IV*. Penerbit ITB. Bandung.
- Rahardjo,S.S.2016.*Review* Tanaman sembung (*Blumea balsamifera* L) Proseding Seminar NasionalTumbuhan obat Indonesia ke50. Samarinda 3:18-28
- Roy, K.,Saha,S.,Biswas, S.,Ahmed, W.,dan Mariappan, G.2013. In Vivo Assessment of Antidiabetic and Antioxidant Activities of *Blumea balsamifera* L in Streptozotocin-diabetic Rats. *Journal of Medical Plant* 7(1):48-57
- Sandrasari, D.A., Bolling, B., and Wijaya, H. 2010. Flavonoid Content and Antioxidant Activity of Vegetables from Indonesia. *Food Chemistry*. 121. 1231-1235.
- Santoso, E., Turjaman, M., Irianto, R., Agustini, L., Efiyanti, L., dan Faulina, S. 2017. *Buku Seri Iptek V Kehutanan: Gaharu*. Pusat Litbang Konservasi dan Rehabilitasi (Puskonser).
- Santoso, H. 2004. *Operasi Teknik Kimia Ekstraksi*. Fakultas Teknik. Universitas Diponegoro. Semarang.
- Sastrohamidjojo, H. 2002. *Kromatografi*. Liberty. Yogyakarta.
- Sastrohamidjojo, H. 1996. *Sintesis Bahan Alam*. Universitas Gadjah Mada Press. Yogyakarta.
- Setyaningrum, D.H. dan Cahyo Saparinto. 2014. *Panduan Lengkap Gaharu*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Setyowati, F.M. dan Wardah. 2009. Keanekaragaman Tumbuhan Obat Masyarakat Talang Mamak di Sekitar Taman Nasional Bukit Tigapuluh, Riau *Biodiversitas*. 8(3): 228-232.
- Silaban. 2014. Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Gaharu (*Aquilaria malaccensis* Lamk). *Skripsi*. Universitas Sumatera Utara. Medan.

- Silverstein, R.M., Webster, F.X. dan Kiemle, D.J. 2005. *Spektrometri Identification of Organic Compound, Seventh Edition*. John Wiley & Sons, Ltd., New York.
- a. b. A.J Hartomo dan Anny Victor Purba. Penerbit Erlangga. Jakarta.
- Skoog, D.A. 2004. *Fundamentals of Analytical Chemistry Eighth Edition*. Brooks/Cole. Kanada.
- Soebagio, E.B., Ibnu, M.S., Widarti, H.R., dan Munzil. 2002. *Kimia Analitik II*. IMSTEP JICA UNM. Malang.
- Sudjadi. 1988. *Metode Pemisahan*. Fakultas Farmasi. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Sri Wahjuni., Nur Hafsiyah., Ni Wayan Bogoriani., 2020. *Uji antihiperglukemia ekstrak etanol daun sembung (Blumea balsamifera L) terhadap tikus wistar jantan (Rattus norvegicus)*. Intisari Sain Medis : Volume 11, Number 2: 365-372. P-ISSN-2503-3638, E-ISSN-2089-9084
- Trifena. 2012. Analisis Uji In Vitro dan In Vivo Ekstrak Kombinasi Kulit Manggis (*Gascinia mangostana* L.) dan Pegagan (*Centella asiatica* L.) sebagai Krim Antioksidan. *Tesis*. Program Studi Magister Herbal. Depok.
- Tristantini, D., Ismawati, A., Pradana, B.T., dan Jonathan, J.G. 2016. Pengujian Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH pada Daun Tanjung (*Mimusops elengi* L.). *Prosiding Seminar Nasional Teknik Kimia*. Yogyakarta.
- Venn, R.F. 2008. *Principles and Practices of Bioanalysis*. Taylor & Francis Group Ltd. New York.
- Wahdaningsih, S., Wahyuono, S., Riyanto, S., dan Murwanti, R. 2017. Penetapan Kadar Fenolik Total dan Flavonoid Total Ekstrak Metanol dan Fraksi Etil Asetat Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus* (F.A.C. Webber) Britton dan Rose). *Pharmakon, Jurnal Ilmiah Farmasi – UNSRAT*. 6(3): 295- 301
- Wikana, J. 2011. Pemberian Kompleks Buah Berry Menurunkan Stress Oksidatif dan Meningkatkan Pertahanan Oksidatif Pada Perokok Aktif. *Tesis*. Universitas Udayana. Denpasar.
- Sri Wahjuni., Nur Hafsiyah., Ni Wayan Bogoriani., 2020. *Uji antihiperglukemia ekstrak etanol daun sembung (Blumea balsamifera L) terhadap tikus wistar jantan (Rattus norvegicus)*. Intisari Sain Medis, 2020, Volume 11, No. 2365 -372. P-ISSN:2503-3638. E-ISSN:2089 – 9084.
- Zheng., W. And Wang ., S.Y. 2007. Oxygen radical absorbing capacity of phenols in Blue Berries, Cranberries, Chokeberries, and Lingonberries. *Food*

BIODATA PENULIS

Prof.Dr. Ir.Sri Wahjuni.,M.Kes dlahirkan di Surabaya pada bulan Juni1959, menempuh pendidikan sejak dari sekolah dasar (SD) sampai Pasca sarjana di Surabaya. Menyelesaikan pendidikan pada Fakultas teknik kimia UPN (Universitas Pembangunan “Veteran Nasional”) Surabaya, Program Pascasarjana Universitas Airlangga (1999) Surabaya, dan Program Pascasarjana (Doktor) Universitas udayana (2011). Sejak 1986 menjadi dosen pada jurusan kimia FMPA Universitas Udayana penelitian lima tahun terakhir yaitu

| No. | Nama Jurnal | JudulArtikel |
|-----|---|---|
| 1. | Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research 11(4),340-343,2018. | Antidiabetik Effect of Indonesian Bay Leaves (<i>Syzygium polyanthum</i>) Extracts Through Decreasing Advanced Glycation End Products and Blood Glucose Level on Alloxan-Induced Hyperglycemic Wistar Rats |
| 2. | Journal Pharma Technology., ISSN 0975 -8542..Volume 11, Issue:04- Juli,2019 | Effect of Binahong (<i>Anredera Cordifolia</i>) Leaf Ethanol Extract Blood Glucosa Level and Pancreatis Histopatology in Hyperglycemic Rats. |
| 3. | Journal Pharma of Global PharmaTechnology ., ISSN 0975 -8542..Volume6 (9):05-April,2020 | Effect of Ethanol Extract of Mustard Green (<i>Brassica rapa</i> L) on srepozoonc Induced Rats |
| 4. | Intisari Sain Medis.,Vol.11.,No.2:365-372. P-ISSN:2503-3638,E-ISSN:2089-9084,2020 | Uji Anthihiperqlikemia ekstrak etanol daun sembung (<i>Blumea balsamifera</i> L) terhadap tikus wistar jantan (<i>Rattus norvegicus</i> 0. |
| 5. | Internasional Journal Phamacetical Research.,ISSN:0975 – 2366,13-12 .,Vol 13,2645 - 2651 Issue 1,2021 | Effects Antihiperglycemic of Sembung (<i>Blumea balsamifera</i> L) Leaf Ethanol Extract on Blood Glucose and Pancreas Histopathology in Hyperglycemic Male Rat (<i>Rattus norvegicus</i>) |
| 6. | Journal Pharma Technology ., ISSN 0975 -8542..Volume6 (9):05-09,2017 | Administration of Binahong (<i>Anredera Cordifolia</i> (Ten)Steenis) leaves Extract Fixes Pancreatic –βcell Damage through lowering Blood Glucoseel and Advanced Glycation End Products(AGES) level in Hyperglycemic Wistar Rat |
| 7 | Journal of Global Pharma Technology, ISSN 0975-8542Volume 9 Issue 05(2017) May 2017 | <i>Red Piper Crocatum</i> Leaves, Extract Ethanol Lowering Malolood Glucose Level In Hyperglycemic Wistar Rat |
| 8. | Recent Advances in Biology and Medicine., E-ISSN :2378-654X. Hasato USA | Intake of <i>Moringa oleifera</i> Leaf Extract Decrease IL-1 and TNF-α Level in Dyslipidemic Wistar Rat Model |

| No. | Nama Jurnal | Judul Artikel |
|-----|---|---|
| 9. | Journal of Health Sciences and Medicine, Vol. 1 No. 1, February 2017 | The Essential Oil Contents of Jeringau (<i>Acorus calamus</i> L.) Rhizome and Their Antifungal Activity Against <i>Candida albicans</i> |
| 10 | The Proceeding of International Conference CoSCI 2016 | Antifungal Activity of Rain Tree (<i>Samanea saman</i> Jacq.) Leaf Extract Against <i>Fusarium solani</i> , The Cause of Stem Rot Disease on Dragon Fruit (<i>Hylocereus</i> sp.) |
| 11 | Proceeding, International Conference on Biosciences and Biotechnology (ICBB) Proceeding, 2016 | Identification and Anticancer Activity Against Myeloma cells of <i>Curcuma zedoaria</i> (Berg.) Roscoe) Essential Oils |

Desember 2020

Penulis

Editor

Prof.Dr.Iwan Harjono Utama,MSVT., M.Th