

Research Article

**ANTIOXIDANT ACTIVITIES OF DIFFERENT POLARITY EXTRACTS
FROM CASHEW (*Anacardium occidentale* L.) LEAVES
AND ISOLATION OF ANTIOXIDANT COMPOUND**

Irda Fidrianny, Komar Ruslan, Jhoni Saputra
Kelompok Keahlian Biologi Farmasi,
Sekolah Farmasi- Institut Teknologi Bandung
Jl. Ganesha 10 Bandung
irda@fa.itb.ac.id

ABSTRACT

Introduction: Cashew (*Anacardium occidentale* (L.)) has been cultivated by the people as a medicinal plant. These plant parts can be used as a source of traditional medicines such as leaves, seeds, and artificial fruit. Cashew leaves contain some compounds that act as antioxidants, hypoglycemic, antipyretic. **Objective:** The aim of this research were to determine antioxidant capacity of different polarity extracts of cashew (*Anacardium occidentale*) leaves by using DPPH assays, its correlation with total flavonoid, phenolic, tannin content and isolation of antioxidant compound. **Methods:** Crude drug was extracted by reflux and using solvent with increasing polarity, n-hexane, ethyl acetate, and ethanol. Antioxidants activities of the extracts were tested by DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) method. Total flavonoids, total phenols in extracts were measured by UV-Vis spectrophotometry, and total tannins was measured by gravimetric. Ethyl acetate extract was fractionated by using vacuum liquid chromatography (VLC). Purification was done by preparative thin layer chromatography (TLC). Isolate was characterized by specific spray reagent, UV-Vis spectrophotometry, and IR spectrophotometry. **Results:** Crude drug of cashew leaves contain flavonoids, phenols, tannins, and steroids / triterpenoids. The highest DPPH scavenging activity (93 %) was given by ethanol extract (with density of extract was 1.19 g/mL). Ethyl acetate extract had the highest total phenolic (1.98 g GAE/100 g) and total flavonoid. (2.99 g QE/100 g). While the highest total tannins 2.04 % was given by ethanol extract. Antioxidant activities cashew leaves extracts had significantly correlation with total phenolic, total flavonoid and total tannin. An antioxidant compound J which was isolated from ethyl acetate extract was flavonoid compound. **Conclusion:** Flavonoid, phenolic and tannin compounds were the major contributors in antioxidant activities of cashew leaves. Antioxidant compounds J was supposed to be flavonols aglycone, that had free OH in C-3.

Key word: antioxidant, different polarity, extract, cashew leaves

Research Article

**AKTIVITAS ANTIOKSIDAN BERBAGAI POLARITAS EKSTRAK
DAUN JAMBU MENTE (*Anacardium occidentale* L.)
DAN ISOLASI SENYAWA ANTIOKSIDAN**

*Irda Fidrianny, Komar Ruslan, Jhoni Saputra
Kelompok Keahlian Biologi Farmasi,
Sekolah Farmasi- Intitut Teknologi Bandung
Jl. Ganesha 10 Bandung
irda@fa.itb.ac.id*

ABSTRAK

Latar belakang: Jambu mente (*Anacardium occidentale* L.) telah digunakan oleh masyarakat sebagai tanaman obat. Beberapa bagian tanaman ini dapat digunakan sebagai sumber bahan obat tradisional seperti daun, biji, dan buah semu. Daun jambu mente mengandung sejumlah senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan, hipoglikemi, antipiretik. **Tujuan:** menguji aktivitas antioksidan dari berbagai polaritas ekstrak daun jambu mente (*Anacardium occidentale*) menggunakan metode peredaman radikal bebas DPPH, korelasi antara aktivitas antioksidan dan total fenol, flavonoid, tanin, serta melakukan isolasi senyawa antioksidan. **Metode:** Simplisia diekstraksi dengan refluks, menggunakan pelarut dengan kepolaran meningkat, yaitu n-heksana, etil asetat, dan etanol. Pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode peredaman radikal bebas DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil). Penetapan total fenol, total flavonoid dalam ekstrak dengan metode spektrofotometri uv-sinar tampak dan total tanin secara gravimetri. Ekstrak etil asetat difraksinasi menggunakan kromatografi cair vakum (KCV). Pemurnian dilakukan secara kromatografi lapis tipis (KLT) preparatif. Isolat dikarakterisasi dengan penampak bercak spesifik, spektrofotometri UV-sinar tampak, dan spektrofotometri IR. **Hasil:** Simplisia daun jambu mente mengandung golongan fenol, flavonoid, tanin, dan steroid/triterpenoid. Aktivitas peredaman radikal bebas DPPH (93 %) diberikan oleh ekstrak etanol (dengan bobot jenis ekstrak 1.19 g/mL). Ekstrak etil asetat mengandung total fenol tertinggi (1.98 g GAE/100 g) and total flavonoid tertinggi (2.99 g QE/100 g). Sedangkan total tanin tertinggi 2.04 % ditunjukkan oleh ekstrak etanol. Aktivitas antioksidan ekstrak daun jambu mente mempunyai korelasi bermakna dengan total fenol, total flavonoid dan total tanin. Senyawa antioksidan J diisolasi dari ekstrak etil asetat adalah senyawa golongan flavonoid. **Simpulan:** Senyawa golongan flavonoid, fenolat dan tanin merupakan kontributor utama dalam aktivitas antioksidan daun jambu mente. Senyawa antioksidan J diduga merupakan senyawa flavonol aglikon, yang mempunyai OH bebas pada C-3.

Kata kunci: antioksidan, berbagai polaritas, ekstrak, daun jambu mente

Research Article

PENDAHULUAN

Stres oksidatif merupakan keadaan yang tidak seimbang antara jumlah molekul radikal bebas dan antioksidan di dalam tubuh. Untuk mencegah terjadinya stres oksidatif dan untuk meredakan radikal bebas diperlukan antioksidan.¹

Radikal bebas dapat menyebabkan berbagai penyakit degeneratif seperti kanker, hiperkolesterolemia, yang dapat dihambat oleh radikal bebas. Banyak ekstrak tanaman yang menunjukkan aktivitas antioksidan dan meredakan radikal bebas, digunakan dalam pengobatan berbagai penyakit.²

Buah-buahan dan sayur-sayuran seperti blueberry, jeruk, manggis, sawi-sawian, daun jambu biji, daun jambu mente mengandung flavonoid, senyawa fenolat dan tanin, mempunyai aktivitas antioksidan.³ Polifenol, flavonoid dan tanin dalam beberapa tanaman mempunyai korelasi yang signifikan dengan aktivitas antioksidan.^{1,4}

Tujuan penelitian ini adalah menguji aktivitas antioksidan berbagai polaritas ekstrak (n-heksana, etil asetat dan etanol) dari daun jambu mente (*Anacardium occidentale*) menggunakan metode peredaman radikal bebas DPPH, korelasi antara aktivitas antioksidan dan total fenol, flavonoid, tanin, serta melakukan isolasi senyawa antioksidan.

METODE

Bahan

Serbuk simplisia daun jambu mente (*Anacardium occidentale* L.), anhidrida asetat, amil alkohol, serbuk magnesium, kalium bromida, besi (III) klorida, natrium hidroksida, pereaksi Dragendorff, pereaksi Mayer, pereaksi Steasny, pereaksi Liebermann-Burchard, natrium asetat, pereaksi Folin-Ciocalteu, plat KLT GF₂₅₄ (pra lapis), silika gel GF₂₅₄, silika gel 60H, 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH).

Pengumpulan dan Pengolahan Tanaman Uji

Daun jambu mente dikumpulkan dari Desa Bencah Kelubi, Kecamatan Tapung, Kabupaten Kampar, Provinsi Riau pada bulan Desember 2011. Pengolahan bahan meliputi sortasi basah, pencucian, pengeringan dan penggilingan menjadi serbuk simplisia.

Ekstraksi dan Pemantauan Ekstrak

Ekstraksi daun jambu mente dilakukan dengan metode refluks menggunakan tiga pelarut dengan polaritas berbeda yaitu n-heksana (non polar), etil asetat (semipolar), dan etanol

Research Article

(polar). Ekstraksi simplisia daun jambu mente dimulai dengan menggunakan pelarut n-heksana. Selanjutnya ampas diekstraksi dengan pelarut etil asetat. Kemudian ampas tersebut diekstraksi dengan pelarut etanol. Masing-masing ekstraksi dilakukan pengulangan tiga kali. Dengan demikian diperoleh tiga macam ekstrak, yaitu ekstrak n-heksana, ekstrak etil asetat dan ekstrak etanol. Ekstrak yang diperoleh kemudian dipekatkan dengan *rotavapor*. Masing-masing ekstrak dipantau secara kromatografi lapis tipis (KLT), dengan fase diam silika gel GF254. Fase gerak yang digunakan adalah n-heksana-kloroform (8:2) untuk ekstrak n-heksana, kloroform-metanol (9 : 1) untuk ekstrak etil asetat, dan toluena-etil asetat-asam asetat (14 mL: 6 mL: 1 tetes) untuk ekstrak etanol. Penampak bercak yang digunakan adalah sinar UV λ 254 nm, sinar UV λ 366 nm, H₂SO₄ 10% dalam metanol, dan DPPH 0,2% dalam metanol.

Penetapan Aktivitas Peredaman Radikal Bebas DPPH

Pembuatan larutan DPPH diadopsi dengan modifikasi metode Blois.⁵ Untuk mengetahui aktivitas antioksidan masing-masing ekstrak dilakukan pengukuran aktivitas peredaman radikal bebas DPPH. Masing-masing ekstrak 50 μ g/mL direaksikan dengan larutan DPPH 50 μ g/mL dalam metanol (perbandingan volume 1:1), diinkubasi selama 30 menit, dan aktivitas peredaman DPPH diukur pada λ 516 nm menggunakan spektrofotometer UV-sinar tampak. Metanol digunakan sebagai blanko dan larutan DPPH 50 μ g/mL sebagai standar. Analisis dilakukan pengulangan tiga kali untuk masing-masing ekstrak dan standar. Aktivitas antioksidan sampel (%) adalah aktivitas peredaman radikal DPPH (%), yang dihitung berdasarkan penurunan absorban DPPH setelah direaksikan dengan sampel.^{6,7}

Penetapan Total Fenol, Total Flavonoid dan Total Tanin

Penetapan total fenol dilakukan menggunakan spektrofotometer UV-sinar tampak dengan pereaksi Folin-Ciocalteu⁸. Absorbansi larutan uji diukur pada λ 765 nm. Asam galat digunakan sebagai standar, dengan konsentrasi 0 - 250 mg/L. Kadar fenol total ditentukan berdasarkan hasil perhitungan dari persamaan regresi kurva kalibrasi asam galat. Total fenol dilaporkan sebagai total asam galat ekuivalen per 100 g ekstrak (g GAE/ 100 g).

Penetapan total flavonoid dilakukan menggunakan spektrofotometer UV-sinar tampak dengan pereaksi AlCl₃.⁹ Absorbansi larutan uji diukur pada λ 415 nm. Standar yang digunakan adalah kuersetin dengan konsentrasi 25- 125 μ g/mL. Kadar flavonoid total ditentukan berdasarkan hasil perhitungan dari persamaan regresi kurva kalibrasi kuersetin. Total flavonoid dilaporkan sebagai total kuersetin ekuivalen per 100 g ekstrak (g QE/ 100 g).

Research Article

Metode penetapan total tanin berdasarkan sifat tanin yaitu dapat menyamak kulit. Kadar tanin dihitung dari selisih antara jumlah zat yang terekstraksi dalam air dan jumlah zat dalam ekstrak yang terikat dengan kulit serta jumlah kulit yang terekstraksi di dalam air¹⁰. Total tanin dilaporkan sebagai bobot tanin per 100 g ekstrak (g tanin/ 100 g).

Analisis Statistik

Analisis statistik aktivitas antioksidan, total fenol, total flavonoid dan total tanin di antara semua ekstrak dilakukan menggunakan ANOVA satu arah dengan metode *Least Significance Different* (LSD). Korelasi antara aktivitas antioksidan ekstrak daun jambu mente dan total fenol, total flavonoid dan total tanin dianalisis menggunakan metode Pearson.

Fraksinasi dan Pemantauan Fraksi

Ekstrak etil asetat difraksinasi dengan kromatografi cair vakum (KCV) dengan fase diam silika gel 60H dan elusi secara gradien menggunakan kombinasi n-heksana-etil asetat dan etil asetat-metanol. Fraksi yang diperoleh dipantau menggunakan kromatografi lapis tipis dengan fase gerak n-heksana-kloroform (5:5). Penampak bercak yang digunakan adalah sinar UV λ 254 nm, sinar UV λ 366 nm, H₂SO₄ 10% dalam metanol, dan DPPH 0,2% dalam metanol.

Pemurnian dan Uji Kemurnian

Fraksi yang dipilih dimurnikan dengan kromatografi lapis tipis preparatif menggunakan fase gerak kloroform-n-heksana (3:7). Pita yang memberikan hasil positif mengandung antioksidan dikerok dan diekstraksi dengan metanol. Isolat yang diperoleh diuji kemurniannya menggunakan kromatografi lapis tipis pengembangan tunggal dengan tiga fase gerak berbeda yaitu n-heksana-kloroform (5:5), aseton-kloroform (1:9), dan kloroform-metanol (9:1), serta kromatografi lapis tipis dua dimensi dengan pengembang n-heksana-kloroform (1:9) dan kloroform-metanol (9:1). Penampak bercak yang digunakan adalah H₂SO₄ 10% dalam metanol.

Karakterisasi Isolat

Isolat dikarakterisasi secara kromatografi lapis tipis dengan penampak bercak spesifik, spektrofotometri UV-sinar tampak, kromatografi kertas dua dimensi dan spektrofotometri inframerah.

Research Article

HASIL DAN DISKUSI

Berbagai penyakit degeneratif seperti kanker, hiperkolesterolemia disebabkan karena radikal bebas. Antioksidan dapat berperan dalam meredam radikal bebas. Banyak ekstrak tanaman yang menunjukkan aktivitas antioksidan dan digunakan dalam pengobatan berbagai penyakit.²

Polifenol, flavonoid dan tanin dalam beberapa tanaman mempunyai korelasi yang signifikan dengan aktivitas antioksidan.^{1,4} Ekstrak etanol dan ekstrak air daun jambu mente mengandung golongan fenol, tanin, flavonoid, asam fenolat, saponin, alkaloid dan steroid.^{11,12,13,14} Ekstrak etanol dan ekstrak air daun jambu mente mempunyai aktivitas antioksidan.^{11,13}

1. Ekstraksi dan Pemantauan Antioksidan Ekstrak

Ekstraksi simplisia daun jambu mente dilakukan dengan metode refluks menggunakan tiga pelarut yang kepolarannya berbeda yaitu n-heksana, etil asetat, dan etanol. Bobot jenis ekstrak n-heksana adalah 0,98 g/mL, ekstrak etil asetat 1,03 g/mL, dan ekstrak etanol 1,19 g/mL.

Dari hasil pemantauan ekstrak daun jambu mente, dapat dilihat bahwa kromatogram masing-masing ekstrak yang disemprot dengan DPPH 0,2% memberikan warna kuning dengan latar belakang ungu, sehingga dapat disimpulkan bahwa secara kualitatif ketiga ekstrak daun jambu mente yaitu ekstrak n-heksana, etil asetat, dan etanol mengandung senyawa antioksidan.^{6,7}

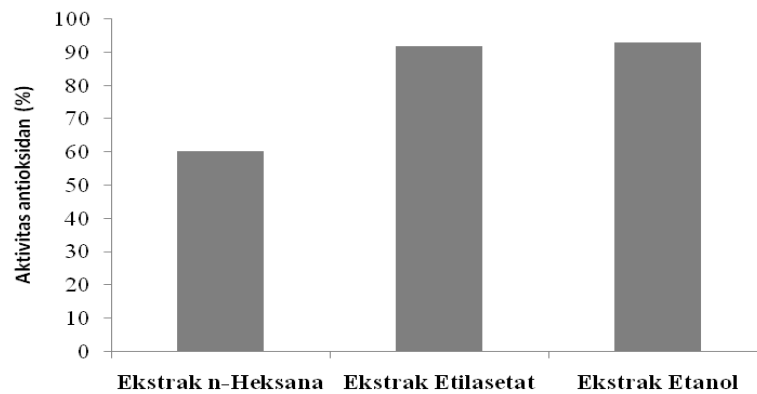
2. Aktivitas Antioksidan Berbagai Ekstrak Daun Jambu Mente

Aktivitas antioksidan dari berbagai polaritas ekstrak daun jambu mente menggunakan metode DPPH dapat dilihat pada Gambar 1. Aktivitas antioksidan berbagai ekstrak tersebut pada rentang 60,21 sampai 93 %. Ekstrak etanol daun jambu mente mempunyai aktivitas peredaman DPPH tertinggi (93,00 %), diikuti ekstrak etil asetat 91,93 %, sedangkan ekstrak n-heksana mempunyai aktivitas antioksidan terendah (60,21%). Hal ini hampir sama dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Jaiswal *et al*¹³ mengungkapkan bahwa aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun jambu mente dengan metode DPPH lebih besar dari pada aktivitas antioksidan ekstrak air dan ekstrak petroleum eter. Hasil yang berbeda pada penelitian Broinizi *et al*¹¹ yang menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan ekstrak air daun jambu mente dengan metode DPPH lebih besar dari pada aktivitas antioksidan ekstrak etanol.

Analisis statistik aktivitas peredaman DPPH di antara ketiga ekstrak menggunakan ANOVA satu arah dan metode LSD menunjukkan bahwa terdapat perbedaan bermakna antara

Research Article

aktivitas peredaman DPPH oleh ekstrak n-heksana, ekstrak etil asetat dan ekstrak etanol daun jambu mente ($p < 0,05$).



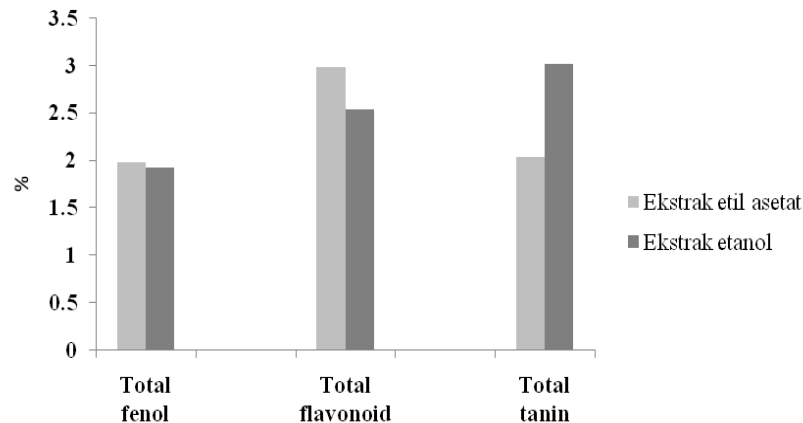
Gambar 1. Aktivitas antioksidan berbagai polaritas ekstrak daun jambu mente

3. Penetapan Total Fenol, Total Flavonoid dan Total Tanin dalam Ekstrak Daun Jambu Mente

Selanjutnya pada masing-masing ekstrak dilakukan penapisan fitokimia yaitu untuk menguji keberadaan golongan fenol, flavonoid, dan tanin yang merupakan golongan yang berpotensi mempunyai aktivitas antioksidan. Hasil penapisan fitokimia masing-masing ekstrak, menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat dan ekstrak etanol mengandung golongan fenol, flavonoid dan tanin, sedangkan ekstrak n-heksana tidak mengandung ketiga golongan tersebut.

Hasil penetapan total fenol menunjukkan bahwa total fenol dalam ekstrak etil asetat (1,98 g GAE/100 g) lebih besar daripada ekstrak etanol (1,93 g GAE/100 g) (Gambar 2). Pengolahan data secara statistik ANOVA satu arah dan metode LSD menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan bermakna total fenol di antara ekstrak etil asetat dan ekstrak etanol daun jambu mente.

Research Article



Gambar 2 Total fenol, flavonoid dan tanin dalam ekstrak daun jambu mente

Hasil riset Jaiswal *et al*¹³ menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun jambu mente mengandung total fenol lebih besar dari pada ekstrak air, sedangkan ekstrak petroleum eter tidak mengandung golongan fenol. Penelitian Broinizi *et al*¹¹ mengungkapkan bahwa total fenol dalam ekstrak air daun jambu mente lebih besar dari pada ekstrak etanol.

Penetapan total flavonoid dalam ekstrak daun jambu mente memperlihatkan bahwa total flavonoid pada ekstrak etil asetat (2,99 g QE/100 g) dan pada ekstrak etanol (2,54 g QE/100 g) (Gambar2). Pengolahan data secara statistik ANOVA satu arah - LSD menunjukkan bahwa terdapat perbedaan bermakna antara total flavonoid pada ekstrak etil asetat dan ekstrak etanol daun jambu mente ($p < 0,05$).

Hasil penetapan tanin total menunjukkan bahwa total tanin dalam ekstrak etil asetat 2,04 % dan pada ekstrak etanol sebesar 3,20 % (Gambar 2). Pengolahan data secara statistik ANOVA satu arah dan LSD menunjukkan bahwa terdapat perbedaan bermakna antara total tanin dalam ekstrak etil asetat dan ekstrak etanol daun jambu mente ($p < 0,05$).

4. Korelasi antara Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Jambu Mente dan Total Fenol, Total Flavonoid, Total Tanin

Koefisien korelasi Pearson antara aktivitas antioksidan ekstrak daun jambu mente dan total fenol, total flavonoid, total tanin dapat dilihat pada Tabel 1. Koefisien korelasi Pearson adalah positif dan tinggi jika $0,68 \leq r \leq 0,97$.³

*Research Article***Tabel 1 Korelasi antara Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Jambu Mente dan Total Fenol, Total Flavonoid, Total Tanin**

Subjek	Koefisien korelasi Pearson terhadap peredaman radikal DPPH
Total Fenol	0,998 **
Total Flavonoid	0,985 **
Total Tanin	0.944 **

Catatan: ** = signifikan pada $p < 0,01$

Dari data Tabel 1 di atas dapat dilihat bahwa aktivitas antioksidan ekstrak daun jambu mente mempunyai korelasi positif dan tinggi terhadap total fenol ($r = 0,998$, $p < 0,01$), total flavonoid ($r = 0,985$, $p < 0,01$) dan total tanin ($r = 0,944$, $p < 0,01$). Hal ini menunjukkan bahwa semakin tinggi total fenol, total flavonoid dan total tanin dalam ekstrak daun jambu mente, maka aktivitas antioksidan daun jambu mente akan makin besar. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa senyawa golongan fenol, flavonoid dan tanin merupakan kontributor utama dalam aktivitas antioksidan daun jambu mente. Hasil penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan ekstrak etanol dan ekstrak air daun jambu mente mempunyai korelasi bermakna dengan total fenol.^{11,13}

5. Isolasi Senyawa Antioksidan dari Ekstrak Etil Asetat

Dari uji aktivitas antioksidan menggunakan pereaksi DPPH diketahui bahwa ekstrak etanol mempunyai aktivitas antioksidan lebih besar dan berbeda bermakna ($p < 0,05$) terhadap ekstrak n-heksana dan ekstrak etil asetat. Pada pengujian total fenol dan total flavonoid, dapat dilihat bahwa ekstrak etil asetat mempunyai total fenol dan total flavonoid lebih besar daripada ekstrak etanol. Sedangkan pada penentuan total tanin diketahui bahwa ekstrak etanol mengandung total tanin lebih besar dari pada ekstrak etil asetat. Dengan demikian dapat dilihat bahwa tanin dalam ekstrak etanol mempunyai peranan besar dalam aktivitas antioksidan ekstrak etanol. Seperti sudah diketahui bahwa proses isolasi senyawa tanin sangat sulit, sehingga proses isolasi untuk mendapatkan senyawa antioksidan dari ekstrak etanol akan lebih sulit. Oleh karena itu ekstrak yang dipilih untuk proses fraksinasi selanjutnya adalah ekstrak etil asetat.

Fraksinasi terhadap ekstrak etil asetat dilakukan menggunakan kromatografi cair vakum dengan fase diam silika gel 60 H dan dielusi secara gradien. Fraksi yang diperoleh kemudian dipantau dengan KLT menggunakan pengembang n-heksana-kloroform (5:5) dan penampak bercak DPPH 0,2 % dalam metanol. Hal ini dilakukan untuk menentukan fraksi yang mengandung senyawa antioksidan. Fraksi yang mengandung senyawa antioksidan akan

Research Article

memberikan bercak yang berwarna kuning dengan latar belakang ungu pada pola KLT. Dari pola kromatogram pemantauan fraksi dapat diketahui bahwa fraksi yang positif mengandung senyawa antioksidan yaitu fraksi 6, 11, 16, dan 21. Dilakukan pemantauan lebih lanjut pada sekitar fraksi ke-11 yaitu pada fraksi no 9, 10, 11, 12, dan 13. Dari data pemantauan fraksi ke-9 hingga fraksi ke-13, akhirnya fraksi ke-9 hingga 11 yang dipilih untuk diteruskan ke tahap pemurnian.

Pemurnian dilakukan secara KLT preparatif menggunakan fase diam silika gel GF₂₅₄ dan fase gerak n-heksana-kloroform (3:7). Bagian pinggir pelat KLT disemprot dengan penampak bercak DPPH 0,2 % dalam metanol. Pita yang mengandung senyawa antioksidan akan memberikan warna kuning dengan latar belakang ungu. Pita berwarna kuning dengan latar belakang ungu tersebut digunakan sebagai acuan dalam pengerakan. Pita J yang menunjukkan positif antioksidan, dikerok dan diekstraksi dengan metanol kemudian disaring.

Pita J kemudian diuji kemurniannya dengan KLT pengembangan tunggal dan KLT dua dimensi. Untuk pengujian KLT pengembangan tunggal digunakan 3 macam fase gerak dengan kepolaran yang meningkat, yaitu n-heksana-kloroform (5:5), aseton-kloroform (1:9), dan kloroform-metanol (9:1). Kemudian dilakukan uji kemurnian secara kromatografi lapis tipis dua dimensi dengan fase gerak I n-heksana-kloroform (1:9) dan fase gerak II kloroform-metanol (9:1). Penampak bercak yang digunakan pada uji kemurnian adalah penampak bercak universal yaitu asam sulfat 10 % dalam metanol. Dari hasil uji kemurnian pita J, baik dengan KLT pengembangan tunggal dengan tiga fase gerak berbeda maupun dengan KLT dua dimensi, diperoleh satu bercak. Selanjutnya pita J disebut sebagai isolat J. Untuk memastikan bahwa isolat J merupakan senyawa antioksidan, selanjutnya isolat J dipantau menggunakan penampak bercak DPPH 0,2% dan menunjukkan bahwa isolat J berwarna kuning dengan latar belakang ungu, sehingga dipastikan bahwa isolat J adalah senyawa antioksidan.

Tahap selanjutnya adalah menentukan karakter (ciri) dan dugaan struktur isolat J. Karakterisasi isolat J dilakukan dengan menggunakan penampak bercak spesifik, yaitu FeCl₃ (penampak bercak golongan fenol) dan sitroborat (penampak bercak golongan flavonoid). Hasil karakterisasi dengan penampak bercak spesifik menunjukkan bahwa isolat J merupakan senyawa golongan flavonoid yang ditunjukkan dengan hasil positif terhadap penampak bercak sitroborat dan FeCl₃.

Hasil karakterisasi dengan spektrofotometri UV-sinar tampak menunjukkan bahwa isolat J memberikan serapan maksimum pada panjang gelombang 258 nm dan 367 nm, yang menunjukkan pola spektrum UV-sinar tampak golongan flavonoid¹⁵. Pita I spektrum UV isolat J berada pada 367 nm, yang menunjukkan bahwa isolat J adalah golongan flavonol. Dari hasil

Research Article

uji kemurnian secara KLT dapat dilihat bahwa isolat J bukan senyawa yang sangat polar. Oleh karena itu, diduga bahwa isolat J adalah flavonol aglikon. Hasil kromatografi kertas dua dimensi dengan pengembang I butanol-asam asetat-air (4:1:5) dan pengembang II asam asetat 15 % menunjukkan bahwa isolat J berada pada posisi kiri bawah, hal ini makin memperkuat dugaan bahwa isolat J adalah senyawa flavonol aglikon¹⁵. Senyawa flavonol aglikon dengan gugus OH bebas pada C-3 akan memberikan fluoresensi kuning di bawah sinar UV λ 366 nm¹⁶ dan ternyata isolat J juga memberikan fluoresensi kuning di bawah sinar UV λ 366 nm. Hal ini menunjukkan bahwa isolat J mempunyai OH bebas pada C-3.

Kemudian dilakukan karakterisasi lanjutan menggunakan spektrofotometri inframerah. Spektrum inframerah isolat J menunjukkan bahwa pada isolat J memberikan puncak pada bilangan gelombang 3444 cm^{-1} (O-H), 2854 cm^{-1} (C-H), 1740 cm^{-1} (C=O), dan 1457 cm^{-1} (C=C), yang merupakan gugus fungsi yang terdapat pada golongan flavonoid. Dari data-data di atas dapat diduga bahwa isolat J merupakan senyawa flavonol aglikon yang mempunyai OH bebas pada C-3.

SIMPULAN

Ekstrak daun jambu mente dengan berbagai polaritas mempunyai aktivitas antioksidan. Ekstrak daun jambu mente merupakan sumber potensial antioksidan. Aktivitas peredaman radikal bebas DPPH (93 %) diberikan oleh ekstrak etanol (dengan bobot jenis ekstrak 1.19 g/mL). Total fenol tertinggi (1,98 g GAE/100 g) and total flavonoid tertinggi (2,99 g QE/100 g). ditunjukkan oleh ekstrak etil asetat. Sedangkan total tanin tertinggi 2.04 % diberikan oleh ekstrak etanol. Aktivitas antioksidan ekstrak daun jambu mente mempunyai korelasi bermakna dengan total fenol, total flavonoid dan total tanin. Senyawa golongan fenol, flavonoid dan tanin merupakan kontributor utama dalam aktivitas antioksidan daun jambu mente. Isolat J yang diperoleh dari ekstrak etil asetat daun jambu mente adalah senyawa antioksidan yang diduga merupakan senyawa flavonol aglikon yang mempunyai OH bebas pada C-3.

DAFTAR PUSTAKA

1. Islam, S. *Sweetpotato leaf: Its potential effect on human health and nutrition*, **J. Food Sci.**, **71**. 2006; R13 -R21.
2. Diplock, A.T., J.L. Charleux, G. Crozier-Willi et al. *Functional food science and defence against reactive oxidative species*, **British J. Nutr.**, **80**. 1998; S77 -S112.
3. Thaipong, K., U. Boonprakob, K. Crosby. *Comparison of ABTS, DPPH, FRAP and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts*, **J. Food Comp. Anal.**, **19**. 2006; 669 -675.

Research Article

4. Heim, K.E., A.R. Tagliaferro and D.J. Bobilya. *Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships*, **J. Nutr. Biochem.**, **13**. 2002; 572 - 584
5. Blois, M.S. *Antioxidant determination by the use of stable free radicals*, **Nature**, **181**. 1958; 1199 -1200.
6. Bedawey, A., E. Mansour, M. Zaky *et al.* *Characteristics of antioxidant isolated from some plant sources*, **Food Nutr. Sci.**, **1**. 2010; 5-12.
7. Molyneux, P. *The Use of the Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity*, **J. Sci. Technol.**, **26**(2). 2004; 211-219.
8. Pourmorad, S. J. Hosseinimehr, N. Shahabimajd. *Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants*, **Afr. J. Biotechnol.**, **5**(11). 2006; 1142-1145.
9. Chang, C.C., M.H. Yang, H.M. Wen and J.C. Chern. *Estimation of total flavonoids content in propolis by two complementary colorimetric methods*, **J. Food Drug Anal.**, **10**. 2002; 178 -182.
10. World Health Organization. **Quality Control Methods For Medicinal Plant Material**, WHO Library Cataloguing in Publication Data, Switzerland : Geneva. 1998; 44.
11. Broinizi, P.R Bolelli et al. *Evaluation of the antioxidant activity phenolic compounds naturally contained in by-products of the cashew apple (*Anacardium occidentale* L.)*, **Food Sci. Technol.**, **27** (4), 2007; 902-908.
12. Chandrasekara, N., F. Shahidi, *Effect of roasting on phenolic content and antioxidant activities of whole cashew nuts, kernels and testa*, **J. Agric Food Chem.**, **59** (9), 2011; 5006-5014.
13. Jaiswal, Y.S., P. Tatke, S.Y. Gabhe *et al.* *Antioxidant activity of various extracts of leaves of *Anacardium occidentale* (Cashew)*, **Res. J. Pharm. Biol. Chem. Sci.**, **1**(4), 2010; 112-119.
14. Oliveira, M.S., S.M. Morais, D.V. Magalhaes *et al.*, *Antioxidant, larvicidal and antiacetylcholinesterase activities of cashew nut shell liquid constituents*, **Acta Trop.**, **117** (3), 2011; 165-170.
15. Markham, K. R. **Cara Mengidentifikasi Flavonoid**, Penerbit ITB, Bandung. 1988; 39.
16. Mabry, T.J., K.R. Markham and M.B. Thomas., **The Systematic Identification of Flavonoids**, Springer Verlag, Berlin. 1970.