

Aktivitas Antioksidan Ekstrak, Fraksi dan Sub Fraksi Ekstrak Etanol Daun Manggis (*Garcinia Mangostana L.*) dan Kuantifikasi Senyawa Aktif dalam Kelompok Sub Fraksi secara Densitometri

Susanti Erikania^{1*}, Dita Silfiana², Nurrizka Kurniawati³, Yulia Kristyanti⁴

^{1,2,3} STIKES Bhakti Husada Mulia madiun

⁴ Universitas Citra Bangsa

* Email : newerikania@gmail.com

Abstrak

Tanaman Manggis (*Garcinia mangostana L.*) banyak dilaporkan memiliki aktivitas farmakologi seperti antimikroba, antikanker, antiinflamasi, antidiabetes, dan antioksidan. Antioksidan merupakan suatu senyawa yang dapat menyerap atau menetralkan radikal bebas sehingga mampu mencegah penyakit degeneratif. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak, fraksi dan sub fraksi ekstrak etanol daun Manggis beserta kuantifikasi senyawa aktifnya. Ekstraksi dilakukan secara maserasi menggunakan etanol 96%. Ekstrak hasil maserasi di partisi secara ECC. Ekstrak dan fraksi hasil ECC dilakukan uji antioksidan menggunakan metode DPPH. Hasil antioksidan tertinggi selanjutnya difraksinasi secara KCV (kromatografi cair vakum). Fraksi diidentifikasi menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT) menghasilkan 3 kelompok sub fraksi yaitu A, B dan C. Pengujian antioksidan dilanjutkan pada 3 kelompok sub fraksi dengan metode DPPH. Kuantifikasi senyawa aktif dalam kelompok sub fraksi menggunakan metode KLT densitometri dengan fase diam silica gel F₂₅₄ dan K etil asetat : toluen : metanol : asam format (6:6:3:2). Analisis data dan statistik menggunakan SPSS *One way Anova*. Hasil penelitian menunjukkan fraksi etanol hasil ECC memiliki nilai IC₅₀ tertinggi yaitu 3,21 ppm dibandingkan ekstrak etanol 4,00 ppm, fraksi n heksan 4,59 ppm dan fraksi etil asetat 3,56 ppm. Kelompok sub fraksi C memiliki aktivitas antioksidan tertinggi dengan nilai IC₅₀ yaitu 18,09 ppm dibandingkan A sebesar 311,81 ppm dan B sebesar 60,52 ppm. Kuantifikasi kelompok sub fraksi secara KLT densitometri diperoleh nilai kadar yaitu C sebesar 1,92 µg/ml, B sebesar 0,80 µg/ml dan A sebesar 1,84 µg/ml. Hasil uji SPSS *One way Anova* menunjukkan nilai signifikan (p<0,05) yang berarti terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok sub fraksi A, B, dan C. Berdasarkan hasil penelitian tersebut dapat disimpulkan bahwa kelompok sub fraksi C memiliki aktivitas antioksidan tertinggi dengan IC₅₀ sebesar 19,09 ppm dan memiliki kadar senyawa aktif tertinggi yaitu 1,92 µg/ml.

Kata Kunci : antioksidan, densitometri, ekstrak daun manggis, ekstraksi cair-cair, kromatografi cair vakum

Abstract

Mangosteen (Garcinia mangostana L.) was reported that it had pharmacological activities such as antimicrobial, anticancer, antiinflammatory, antidiabetic and antioxidant. Antioxidant was a compound that neutralized free radicals to prevent degenerative diseases. This study aims to determine the antioxidant activity of extract, fractions and sub-fractions of the mangosteen leaves extract and quantification of their active compounds in sub fractions. The extraction method was used by maceration with 96% ethanol as the solvent. The extract was continued by partition (liquid liquid extractions). Extracts and fractions of LLE were tested for antioxidant activity by DPPH method. The highest yield of antioxidants was fractionated by KCV (vacuum liquid chromatography). The sub fractions were monitored by

thin layer chromatography (TLC) were produced of 3 sub-fraction groups namely A, B and C. Antioxidant tested was continued to the 3 sub-fraction groups by DPPH method. The Quantification of the active compounds in the sub-fraction groups used densitometry method with stationary phase of silica gel F254 and the mobile phase of ethyl acetate : toluene : methanol : formic acid (6:6:3:2). The Data analysis and statistical were used SPSS One way Anova. The results of this research was showed that the LLE ethanol fraction had the highest IC₅₀ value of 3.21 ppm compared to 4.00 ppm ethanol extract, 4.59 ppm n hexane fraction and 3.56 ppm ethyl acetate fraction. The C sub-fraction group had the highest antioxidant activity with the IC₅₀ value of 18.09 ppm compared to A was 311.81 ppm and B was 60.52 ppm. The quantification of sub-fraction groups by densitometry were obtained the value of C was 1.92 µg/ml, B was 0.80 µg/ml and A was 1.84 µg/ml. The results of the SPSS One way Anova showed a significant value ($p < 0.05$), it meaned that there was a significant difference between the A, B, and C sub-fraction groups. So it can be concluded that the C sub-fraction group had the highest antioxidant activity with an IC₅₀ of 19.09 ppm and had the highest active compound content value was 1.92 µg/ml.

Keywords : *antioxidant, densitometry, mangosteen leaves extract, , liquid-liquid extraction, vacuum liquid chromatography*

1. PENDAHULUAN

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menetralkan radikal bebas yang dapat mencegah penyakit-penyakit degeneratif seperti kardiovaskuler, karsinogenesis, katarak dan penuaan dini (I Made Oka, 2016). Ketidakseimbangan jumlah antioksidan tersebut didalam tubuh dengan radikal bebas menyebabkan terjadinya stress oksidatif yang memicu munculnya penyakit degenerative mengakibatkan kerusakan jaringan dan sel. Kondisi tersebut dapat diatasi dengan asupan antioksidan yang dapat berasal dari buah-buahan, sayuran dan tanaman lain mengandung vitamin C, vitamin E dan metabolit sekunder seperti flavonoid. Alkaloid, tannin dan saponin.

Manggis (*Garcinia mangostana* L.) merupakan salah satu tanaman yang dikenal memiliki banyak manfaat bagi kesehatan. Banyak penelitian yang melaporkan ekstrak buah, daun dan batang Manggis memiliki aktivitas sebagai antimikroba antikanker, antiinflamasi,

antidiabetes mellitus dan antioksidan (Ghani dan Turahman, 2018). Ghani dan Turahman (2018) melaporkan bahwa daun Manggis mengandung senyawa kimia golongan flavonoid, saponin, dan steroid serta aktivitas antioksidan dengan IC₅₀ yaitu 45,36 µg/ml lebih kecil dibandingkan dengan vitamin C dengan IC₅₀ yaitu 20,58 µg/ml. Penelitian Salim dkk (2019) melaporkan bahwa daun Manggis positif mengandung senyawa fenolik, saponin, triterpenoid dan alkaloid dengan nilai IC₅₀ yaitu 5,81 µg/ml.

Penelitian ini, peneliti tertarik untuk melakukan uji antioksidan pada ekstrak, fraksi dan subfraksi dari ekstrak etanol daun Manggis untuk mengetahui efektivitas antoksidan terbaik menggunakan metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). Metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi menggunakan pelarut etanol 96 %. Fraksinasi ekstrak secara ekstraksi cair-cair (ECC) dan subfraksi secara kromatografi cair vakum (KCV) menggunakan pelarut dengan

kepolaran bertingkat yaitu n heksan, etil asetat dan etanol. Kuantifikasi perlu dilakukan untuk mengetahui kadar senyawa aktif melalui parameter IC50 tertinggi. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi alternatif antioksidan dari daun Manggis.

2. METODE

a. Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu daun Manggis segar, etanol 96%, kloroform, etil asetat, etanol PA, ekstrak etanol daun Manggis, fraksi etanol daun Manggis, H₂SO₄, besi (III) klorida, asam asetat glasial, serbuk magnesium, larutan amonia 10%, kloroform, HCl pekat, pereaksi wagner, pereaksi dragendorff, pereaksi mayer, NaCl 0,9%, aquadestilata, DPPH, quersetin.

Alat yang digunakan yaitu cawan porselen, gelas ukur, beker gelas, batang pengaduk, corong pisah, botol coklat, tabung reaksi IWAKI, spatula, pipet microliter, erlemeyer, rotary evaporator, waterbath, bunsen, rak tabung reaksi, corong, gunting, aluminium foil, pipet tetes, blender, pinset, Spektrofotometri UV-Vis, timbangan analitik, kromatografi lapis tipis, kromatografi cair vakum, kromatografi lapis tipis densitometri.

b. Metode

1) Ekstraksi

Serbuk daun Manggis diekstraksi secara maserasi menggunakan etanol 96 % selama 3 hari dan dikentalkan menggunakan rotary evaporator.

2) Identifikasi Fitokimia

Identifikasi Flavonoid, 0,5 g ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 5 mL etanol dipanaskan

selama 5 menit, ditambahkan 10 tetes asam klorida (HCl) pekat, ditambahkan 0,2 g serbuk magnesium (Mg). Adanya flavonoid ditunjukkan oleh timbulnya warna merah.

Identifikasi Senyawa Alkaloid, 0,5 g ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 2 mL kloroform (CHCl₃) dan 10 mL amonia (NH₃) lalu ditambahkan 10 tetes asam sulfat (H₂SO₄). Campuran dikocok dan dibiarkan hingga membentuk 2 lapisan. Larutan ditambahkan dengan pereaksi Dragendorff. Terbentuknya endapan coklat pada larutan menandakan adanya alkaloid.

Identifikasi Tanin, 0,5 g ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan dengan 10 mL air panas, ditetesi besi (III) klorida (FeCl₃), tanin dalam sampel ditandai dengan timbulnya warna hijau kehitaman.

Identifikasi Saponin, 0,5 g ekstrak ditambah 10 mL akuades, dikocok selama 1 menit, didiamkan 10 menit dan diamati buih atau busa yang terbentuk. Senyawa saponin ditandai dengan terbentuknya buih/busa yang stabil selama 10 menit.

Identifikasi Steroid/Terpenoid, 0,5 gr sampel ditambah dengan pereaksi Liberman Burchard sebanyak 1 ml. Senyawa terpenoid ditunjukkan apabila larutan berwarna biru tua. Senyawa steroid ditunjukkan dengan terbentuknya warna hijau.

3) Fraksinasi ECC

Fraksinasi ECC (Ekstraksi cair-cair) dilakukan dengan menimbang 5 gr ekstrak yang dipartisi menggunakan pelarut n heksan, etil asetat dan etanol. Tiap fraksi yang diperoleh dipekatkan menggunakan rotaryevaporator.

4) Uji Antioksidan

Pembuatan Larutan Induk DPPH 600 ppm dilakukan dengan menimbang sebanyak 15 mg DPPH dilarutkan dengan 25 ml etanol PA dalam labu ukur hingga diperoleh konsentrasi 600 ppm. Penetapan Panjang Gelombang (λ) Maksimum DPPH dilakukan dengan sebanyak 6 ml larutan DPPH 600 ppm ditambahkan etanol PA ad 10 ml dalam labu ukur yang dilapisi alumunium foil, dihomogenkan kemudian diinkubasi selama 30 menit, selanjutnya diukur serapan pada panjang gelombang 400-800 nm menggunakan spektrofotometri UV-Visibel.

Pembuatan Larutan Blanko, Dipipet larutan DPPH 600 ppm sebanyak 6 ml kemudian ditambahkan etanol PA ad 10 ml diperoleh konsentrasi 360 ppm. Larutan harus terlindungi dari cahaya. Kemudian diukur serapan panjang gelombang DPPH menggunakan spektrofotometri UV-Visibel.

Pembuatan Larutan Standart Quercetin dengan ditimbang quercetin sebanyak 15 mg kemudian dilarutkan dengan etanol PA 25 ml, diperoleh larutan baku dengan konsentrasi 600 ppm. Selanjutnya dibuat konsentrasi 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm, dan 10 ppm. Lalu masing-masing konsentrasi dipipet sebanyak 80 μ l, 160 μ l, 250 μ l, 330 μ l, dan 410 μ l, lalu ditambahkan 1 ml DPPH 600 ppm dan etanol PA ad 10 ml. Campuran tersebut dihomogenkan dan diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruang dan dibaca absorbansinya.

Larutan Uji ekstrak dan fraksi hasil ECC masing-masing ditimbang 10 mg kemudian dilarutkan dengan etanol PA ad 10 ml, diperoleh larutan baku dengan konsentrasi 1000 ppm. Dibuat konsentrasi 10 ppm, 20 ppm, 40 ppm, 80 ppm, dan 100 ppm. campuran tersebut dihomogenkan dan

diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruang. Selanjutnya dilakukan perhitungan IC50 dari sampel dengan mengukur nilai absorbansinya menggunakan spektrofotometer Uv-Vis pada panjang gelombang maksimum DPPH.

5) Fraksinasi Secara KCV

Larutan uji yang memiliki aktivitas antioksidan tertinggi selanjutnya difraksinasi menggunakan KCV (Kromatografi cair vakum) menggunakan pelarut n heksan, etil asetat dan etanol secara bertingkat. Sub fraksi yang dihasilkan selanjutnya di monitoring menggunakan KLT dengan fase gerak kloroform : aseton (6 : 4) dan fase diam silika gel F254. Pengamatan terhadap bercak noda dilakukan menggunakan sinar UV 254 nm dan 366 nm. Sub fraksi yang dihasilkan dikelompokkan berdasarkan profil kromatogram. Kelompok subfraksi selanjutnya akan diuji antioksidan dengan metode DPPH.

6) Kuantifikasi secara Densitometri

Kuantifikasi senyawa dalam kelompok subfraksi dilakukan menggunakan densitometri dengan fase gerak asetat : toluene : asam format : metanol (6:6:3:2). Standar yang digunakan adalah quercetin.

Pembuatan Larutan Induk Quercetin dibuat dengan ditimbang 5 mg standar Quercetin, ditambah pelarut etanol pa hingga 10 ml. Pembuatan Kurva Baku Standar Quercetin yaitu dengan dibuat larutan stok standar dengan 5 konsentrasi yaitu 1, 3, 5, 7 dan 9 ppm. Kemudian larutan stok standar dan subfraksi hasil KCV ditotolkan masing-masing sebanyak 3 μ L pada plat KLT dengan fase diam silika gel 60 F254 menggunakan semiautomatic sampler Camag Linomat 5, dielusi dengan fase gerak yaitu etil asetat : toluene : asam format : metanol (6:6:3:2)

discanning dan diukur pada panjang gelombang 254 nm pada alat KLT Densitometri. Kadar senyawa aktif diperoleh dari persamaan kurva baku

dengan perbandingan antara konsentrasi larutan stok standar quercetin dengan luas area (AUC) (Erikania, 2019)

Tabel 1. Tabel fraksinasi KCV

| No | Pelarut Yang Digunakan | Perbandingan pelarut yang digunakan |
|-----|-------------------------|-------------------------------------|
| 1. | Kloroform | 50 ml |
| 2. | Kloroform : Etil Asetat | 40 ml : 10 ml |
| 3. | Kloroform : Etil Asetat | 30 ml : 20 ml |
| 4. | Kloroform : Etil Asetat | 20 ml : 30 ml |
| 5. | Kloroform : Etil Asetat | 10 ml : 40 ml |
| 6. | Etil Asetat | 50 ml |
| 7. | Etil Asetat : Etanol | 40 ml : 10 ml |
| 8. | Etil Asetat : Etanol | 30 ml : 20 ml |
| 9. | Etil Asetat : Etanol | 20 ml : 30 ml |
| 10. | Etil Asetat : Etanol | 10ml : 40 ml |
| 11. | Etanol | 50 ml |

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

a. Hasil Ekstraksi

Ekstraksi daun Manggis yang dilakukan secara maserasi menggunakan pelarut etanolol 96% selama 72 jam (3 hari) menghasilkan ekstrak kental yang dapat dilihat pada tabel 2.

Ekstrak etanol daun Manggis diperoleh dari proses ekstraksi secara maserasi. Metode maserasi dipilih karena memiliki kelebihan yaitu peralatan yang sederhana, metode yang relatif sederhana dan mudah dilakukan, serta biaya relatif rendah. Pelarut yang digunakan dalam penelitian ini adalah etanol 96% karena etanol merupakan pelarut yang bersifat polar, mudah di dapat, dan universal (Noviyanti, 2016).

Tabel 2. Hasil Ekstrak

| Berat serbuk (Kg) | Berat ekstrak (Gram) | Rendemen (%) |
|-------------------|----------------------|--------------|
| 1,182 Kg | 144 gram | 12,1 % |

b. Identifikasi Fitokimia

Hasil identifikasi fitokimia dari ekstrak daun Manggis dapat dilihat pada tabel 3. Berdasarkan hasil skrining fitokimia ekstrak diperoleh bahwa ekstrak etanol daun Manggis mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, saponin dan tanin. Senyawa-senyawa tersebut dilaporkan memiliki aktivitas farmakologi yang berbeda. Senyawa kimia tersebut dapat dipisahkan berdasarkan tingkat kelarutannya menggunakan fraksinasi metode partisi atau ekstraksi cair-cair (ECC) menggunakan pelarut n-heksan, etil asetat dan etanol. Metode ini menghasilkan 3 fraksi yaitu fraksi n-heksan sebagai fraksi non polar, fraksi etil asetat sebagai fraksi semi polar dan fraksi etanol sebagai fraksi polar (Pratiwi dkk, 2016).

Tabel 3. Identifikasi Senyawa Dalam Ekstrak etanol Daun Manggis

| No | Senyawa | Hasil | Ket |
|----|-----------|--------------------------|-----|
| 1. | Alkaloid | Endapan Coklat | + |
| 2. | Flavonoid | Merah | + |
| 3. | Tanin | Hijau | + |
| 4. | Saponin | Kehitaman Terbentuk Busa | + |

Senyawa metabolit sekunder yang diperoleh pada penelitian ini diduga merupakan senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan. Senyawa kimia memiliki potensi sebagai antioksidan yaitu flavonoid (Agustina,dkk 2017), alkaloid (Pratiwi dkk, 2016), tanin (Berawi, 2018) dan saponin (Syarif dkk, 2015). Senyawa-senyawa tersebut memiliki mekanisme kerja sebagai antioksidan yaitu alkaloid dengan mendonorkan atom H pada radikal bebas sehingga menetralkan radikal bebas (Kurniati, 2013). Flavonoid dengan mendonorkan ion hidrogen sehingga dapat menetralkan radikal bebas (Kusuma, 2015). Tanin mampu mengikat ion besi dan memperlambat oksidasi (Amarowicz, 2007). Saponin terdiri dari saponin merupakan bagian bebas dari glikosida yang disebut aglikon memiliki aktivitas antioksidan dengan cara membentuk

hidroperoksida sebagai antioksidan sekunder sehingga menghambat pembentukan lipid peroksida (Kurniati, 2013).

c. Fraksinasi EC

Hasil fraksinasi ekstrak etanol daun Manggis dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Hasil Fraksinasi ECC ekstrak etanol daun Manggis

| No | Fraksi | Bobot Fraksi (Gram) | Rendemen % |
|----|--------------------|---------------------|------------|
| 1 | Fraksi N-heksan | 4,9 | 0,25 |
| 2 | Fraksi Etil Asetat | 11,2 | 0,56 |
| 3 | Fraksi Etanol | 17,3 | 5,77 |

d. Uji aktivitas antioksidan

Hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak dan fraksi hasil ECC dapat dilihat pada tabel 5. Penelitian ini dilakukan pengujian aktivitas antioksidan daun Manggis menggunakan metode DPPH. Uji ini dilakukan berdasarkan prinsip reaksi antara radikal DPPH dengan senyawa antioksidan di dalam sampel. Senyawa antioksidan akan mengubah warna radikal DPPH dari violet menjadi kuning karena kemampuannya mengikat elektron bebas yang tidak berpasangan dari senyawa radikal (Sadeli 2016). Penentuan nilai antioksidan yang dinyatakan dengan IC50 (Inhibition Concentration).

Tabel 5. Hasil uji antioksidan ekstrak dan fraksi hasil ECC

| Quercetin | | | | |
|--------------------|-------------|------|---------|-------------|
| Replikasi | IC 50 (ppm) | SD | X (ppm) | X ± SD |
| 1 | 2,76 | | | |
| 2 | 2,68 | 0,06 | 2,69 | 2,69 ± 0,06 |
| 3 | 2,64 | | | |
| Ekstrak Etanol | | | | |
| Replikasi | IC 50 (ppm) | SD | X (ppm) | X ± SD |
| 1 | 4,12 | | | |
| 2 | 4,05 | 0,04 | 4,09 | 4,09 ± 0,04 |
| 3 | 4,11 | | | |
| Fraksi N-Heksan | | | | |
| Replikasi | IC 50 (ppm) | SD | X (ppm) | X ± SD |
| 1 | 4,61 | | | |
| 2 | 4,74 | 0,07 | 4,69 | 4,69 ± 0,07 |
| 3 | 4,71 | | | |
| Fraksi Etil Asetat | | | | |
| Replikasi | IC 50 (ppm) | SD | X (ppm) | X ± SD |
| 1 | 3,97 | | | |
| 2 | 3,75 | 0,11 | 3,86 | 3,86 ± 0,11 |
| 3 | 3,85 | | | |
| Fraksi Etanol | | | | |
| Replikasi | IC 50 (ppm) | SD | X (ppm) | X ± SD |
| 1 | 3,22 | | | |
| 2 | 3,28 | 0,03 | 3,25 | 3,25 ± 0,03 |
| 3 | 3,26 | | | |

Berdasarkan data diatas dapat diketahui bahwa fraksi etanol daun Manggis memiliki nilai IC50 terkecil yang artinya memiliki aktivitas antioksidan terbesar dibandingkan dengan ekstrak etanol, fraksi n-heksan dan fraksi etil asetat. Standar pembanding yang digunakan adalah quercetin yang memiliki struktur cincin dan konfigurasi aglycon dari kelompok hidroksil, hal ini membuat quercetin menjadi salah satu flavonoid yang paling baik dalam kemampuan sebagai antioksidan (Arifin dk, 2018). Nilai IC50 quercetin yang diperoleh yaitu sebesar 2,69 ppm, hasil ini menjelaskan bahwa quercetin sebagai pembanding atau kontrol positif termasuk dalam golongan

antioksidan sangat kuat dikarenakan nilai IC50 yang diperoleh kurang dari 50 ppm.

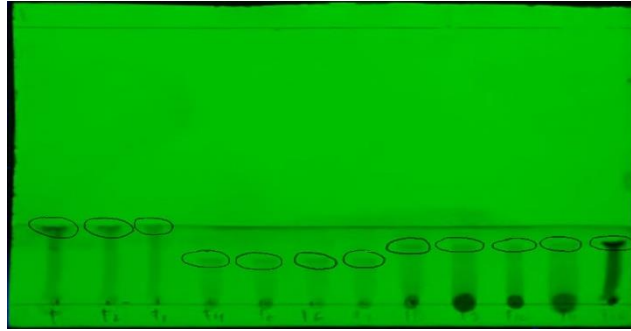
e. Fraksinasi KCV

Proses isolasi dilanjutkan dengan melakukan fraksinasi pada fraksi etanol karena memiliki aktivitas antioksidan tertinggi dibandingkan ekstrak etanol, fraksi n heksan dan fraksi etil asetat. Hal ini dilakukan untuk mengetahui kadar senyawa aktif dalam fraksi aktif yg diisolasi secara KCV menjadi lebih spesifik.

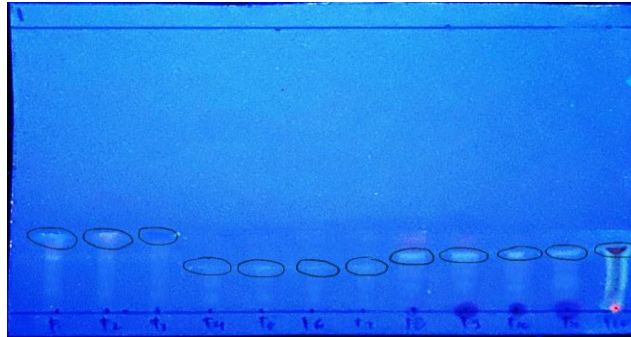
Berdasarkan hasil uji antioksidan pada tabel 5, fraksi etanol memiliki aktivitas antioksidan tertinggi dengan IC50 rata-rata adalah 3,25 ppm. Fraksi etanol ini yang akan difraksinasi Kembali secara KCV menggunakan pelarut n heksan, etil asetat

dan etanol secara bertingkat. Hasil KLT fraksi KCV dapat dilihat pada

gambar 1 dan 2.



Gambar 1. KLT UV 254



Gambar 2. KLT UV 366

Berdasarkan pengamatan plat KLT tampak dua noda tunggal pada eluen ke delapan, sembilan, sepuluh dan sebelas. eluen ini dijadikan dalam satu kelompok fraksi yaitu fraksi C. Eluen tersebut memiliki Rf yang sama dengan standart quercetin yaitu 0,50. Ini menunjukkan bahwa fraksi daun Manggis memiliki warna noda yang sejajar dengan quercetin. Rf tersebut berada dalam rentan Rf maksimal yaitu 0,2-0,8. (M.Deky, 2013). Berdasarkan monitoring KLT diperoleh beberapa eluen yang memiliki pola pemisahan yang sama dapat digabung menjadi tiga kelompok subfraksi besar yaitu subfraksi A (eluen 1-3), subfraksi B (eluen 4-7) dan subfraksi C (eluen 8-11) sesuai tabel 6.

Hasil penelitian pada pengujian antioksidan secara DPPH yang dilakukan pada subfraksi menunjukkan bahwa semakin bertambahnya konsentrasi sampel maka, absorbansi sampel semakin menurun akan tetapi semakin meningkatnya % inhibisi. Ini menunjukkan bahwa semakin banyak senyawa antioksidan yang terkandung pada sampel yang dapat menangkal radikal bebas (Flensian V, 2020). Hasil uji antioksidan pada subfraksi dapat dilihat pada tabel 7.

Tabel 6. Hasil pengelompokan subfraksi hasil KCV

| No | Eluen | Kode Fraksi | Kelompok Subfraksi | Nilai Rf (cm) |
|----|-------------|-------------|--------------------|---------------|
| 1 | Eluen ke-1 | A | | |
| 2 | Eluen ke-2 | A | A | 0,23 |
| 3 | Eluen ke-3 | A | | |
| 4 | Eluen ke-4 | B | | |
| 5 | Eluen ke-5 | B | B | 0,33 |
| 6 | Eluen ke-6 | B | | |
| 7 | Eluen ke-7 | B | | |
| 8 | Eluen ke-8 | C | | |
| 9 | Eluen ke-9 | C | C | 0,50 |
| 10 | Eluen ke-10 | C | | |
| 11 | Eluen ke-11 | C | | |

Tabel 7. Hasil uji antioksidan kelompok subfraksi

| No | Kelompok | Nilai IC ₅₀ (ppm) ± SD | Kategori |
|----|-------------|-----------------------------------|-------------|
| 1 | Quercetin | 5,8837 ± 0,07 | Sangat Kuat |
| 2 | Subfraksi A | 331,8115 ± 1,83 | Lemah |
| 3 | Subfraksi B | 70,5947 ± 0,22 | Kuat |
| 4 | Subfraksi C | 19,09023 ± 0,83 | Sangat Kuat |

Aktivitas antioksidan yang dinyatakan sebagai IC₅₀ (Inhibition concentration) yang dihasilkan dari subfraksi A diperoleh nilai IC₅₀ sebesar 331,81 ppm, subfraksi B sebesar 70,59 ppm, subfraksi C sebesar 19,09 ppm dan quercetin sebesar 5,88 ppm.. Ini menunjukkan bahwa subfraksi A memiliki kategori antioksidan yang lemah, subfraksi B kategori antioksidan kuat, subfraksi C memiliki kategori antioksidan yang sangat kuat dan standart quercetin memiliki kategori antioksidan yang sangat kuat dibandingkan dengan antioksidan yang menggunakan metode ekstraksi cair-cair (ECC) (Ghani dan Turahman, 2018). Quercetin digunakan sebagai standar dalam penelitian ini karena quercetin merupakan senyawa flavonoid yang paling banyak ditemukan didalam tanaman. Efek antioksidan quercetin berperan penting dalam pencegahan dan pengobatan penyakit. quercetin dapat meningkatkan kapasitas antioksidan dalam tubuh dengan

cara mengatur glutathione (Dong Xu,2019).

f. Kuantifikasi secara densitometri

Hasil kuantifikasi kelompok subfraksi dapat dilihat pada tabel 8

Tabel 8. Data Luas Area Quercetin

| Bahan Uji | Konsentrasi | Luas area (AUC) |
|-----------|-------------|-----------------|
| Standar 1 | 1 µg/ml | 5302,9 |
| Standar 2 | 3 µg/ml | 5469,8 |
| Standar 3 | 5 µg/ml | 7581,7 |
| Standar 4 | 7 µg/ml | 9373,8 |
| Standar 5 | 9 µg/ml | 11304,4 |

Persamaan kurva baku untuk penetapan kadar quercetin dibuat dengan membandingkan konsentrasi dengan luas area (AUC) menghasilkan koefisien korelasi yang baik, yaitu $0,9559 \geq 0,999$ dengan persamaan kurva baku $y = 795,35x + 3829,8$. Hasil pemeriksaan fraksi-fraksi hasil HCV secara KLT densitometri ditunjukkan pada tabel 9.

Hasil densitometri pada sampel menunjukkan bahwa kadar tertinggi ditunjukkan pada kelompok subfraksi C sebesar $1,92 \mu\text{g/ml}$ dengan Rf 0,5. Sedangkan quercetin memiliki Rf sebesar 0,50. Rf ini memenuhi persyaratan Rf yang baik adalah 0,2-0,8 (Ayu, 2019). Senyawa yang telah diisolasi dari daun Manggis

diduga berfungsi sebagai antioksidan salah satunya yaitu quercetin (Muhammad, 2020).

Pada penelitian ini menunjukkan bahwa kelompok ekstrak, fraksi hasil ECC (ekstraksi cair-cair), subfraksi A, subfraksi B, subfraksi C hasil KCV (kromatografi vakum cair) dan standar quercetin memiliki pengaruh aktivitas antioksidan dengan dibuktikan nilai sig $p < 0,05$. Ini berarti terdapat perbedaan yang bermakna dari masing-masing perlakuan antara ekstrak, fraksi hasil ECC, subfraksi hasil KCV dan standar quercetin. Subfraksi C dengan aktivitas antioksidan tertinggi yaitu $19,09023 \pm 0,83 \text{ ppm}$ memiliki kadar senyawa aktif tertinggi yaitu $1,92 \mu\text{g/ml}$.

Tabel 9. Kadar kelompok subfraksi

| Kelompok subfraksi | Konsentrasi | Rata-rata luas area (AUC) | Rata –rata Kadar |
|--------------------|---------------------|---------------------------|------------------|
| A | 50 $\mu\text{g/ml}$ | 5293.9 | 1,84 |
| B | 50 $\mu\text{g/ml}$ | 4473.0 | 0,80 |
| C | 50 $\mu\text{g/ml}$ | 2298,6 | 1,92 |

4. SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian diatas dapat disimpulkan yaitu ekstrak, fraksi dan subfraksi dari ekstrak etanol daun Manggis memiliki aktivitas antioksidan . Kelompok subfraksi C memiliki aktivitas antioksidan tertinggi dengan IC50 sebesar 19,09 ppm dan memiliki kadar senyawa aktif tertinggi yaitu $1,92 \mu\text{g/ml}$.

5. DAFTAR PUSTAKA

Agustina W., Nurhamida., Dewi handayani. 2017. Skrining Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Beberapa Fraksi dari Kulit batang jarak (*Ricinus communis L.*). Jurnal Pendidikan dan Ilmu Kimia. Bengkulu

Amarowicz, R. (2007). Tannins: the new natural antioxidants. European Journal of Lipid Science and Technology. 109, 549–551.

Arifin B., Sanursi Ibrahim. 2018. Struktur, Bioaktivitas Dan Antioksidan Flavonoid. Jurnal Zarah. Padang

Berawi KN., Desty Marini. 2018. Efektivitas Kulit Batang Bakau Minyak (*Rhizophora apiculata*) sebagai Antioksidan. J Agromedicine. Lampung

Deky, Muhammad. 2013. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak N-Heksan Buah Lakum (*Cayratia trifolia*) Dengan Metode DPPH (2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil). Naskah Publikasi. Universitas Tanjungpura. Pontianak.

- Dr. Drs I Made Oka Adi Parwata, M.Si. 2016. Bahan Ajar Obat Tradisional. Denpasar bali : Univ Udayana.
- Erikania, Susanti, 2019. Aktivitas Fraksi dan Subfraksi Ekstrak Etanol Daun Mangga Bacang (*Mangifera foetida* L.) Terhadap Kadar Feritin Darah Pasien Talasemia β Mayor Secara In Vitro Dan Kuantifikasi Kandungan Mangiferin Dalam Subfraksi Aktif. Tesis thesis. Surakarta : Universitas Setia Budi Surakarta.
- Frelinsia V.M. D., Defny S W., Irma A. 2020. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Ascidian *Herdmania Momus* Dengan Metode Dpph (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). Program Studi Farmasi FMIPA UNSRAT Manado, 95115.
- Ghani, N. F. S., dan T. Turahman. 2018. Aktivitas Antibakteri Ekstrak dan Fraksi Daun Manggis (*Garcinia mangostana*) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Universitas Setia Budi, Surakarta
- Kusuma ASW. 2015. The Effect of Ethanol Extract of Soursop Leaves (*Annona muricata* L.) to Decreased Levels of Malondialdehyde. J MAJORITY. Lampung
- Kurniati RA. 2013. Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Etanol Daun Buas-Buas (*Premna cordifolia* Linn.) Dengan Metode Dpph (2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil). Naskah Publikasi. Pontianak
- Natasya, Ayu. 2019. Aktivitas Antibakteri dan Analisis KLT-Bioautografi dari Fraksi Daun Manggis (*Garcinia mangostana* L.). Jurnal Kefarmasian (Vol 8). Universitas Sam Ratulangi. Manado
- Noviyanti. 2016. Pengaruh Kepolaran Pelarut Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Jambu Brazil Batu (*Psidium guineense* L.) Dengan Metode Dpph. Jurnal Farmako Bahari
- Pratiwi. 2014. Skrining Uji Efek Antimitosis Ekstrak Daun Botto'-Botto' (*Chromolaena Odorata* L.) Menggunakan Sel Telur Bulubabi (*Tripneustus* *Gratilla* L.). Skripsi. Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Alauddin. Makassar.
- Sadeli RA. 2016. Uji Aktifitas Antioksidan dengan Metode DPPH (1,1-diphenyl-2-pikrilhidrazil) Ekstrak Bromelain Buah Nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr.). Naskah Publikasi. Yogyakarta
- Salim, E., Yogi Afritunando., Nindi Antika Febriana., Mai Efdi. 2019. Studi Optimasi Ekstraksi Kandungan Senyawa Fenolik Total Dan Uji Aktivitas Antioksidan Dari Daun Manggis (*Garcinia mangostana* Linn.). Jurnal Riset Kimia. Padang : Sumatera Barat.
- Setiawan, Muhammad. 2019. Uji Antioksidan *Stylissa* sp dengan menggunakan metode DPPH. Jurnal kefarmasian (Vol 8 : 4). Universitas Sam Ratulangi. Manado
- Syarif RA., Muhajir., Aktsar Roskiana Ahmad., Abd. Malik. 2015. Identifikasi Golongan Senyawa Antioksidan Dengan Menggunakan Metode Peredaman Radikal Dpph Ekstrak Etanol Daun *Cordia myxa* L. Jurnal Fitofarmaka Indonesia. Makasar
- Xu, Dong., dkk, 2019. Antioxidant Activities of Quercetin and Its Complexes for Medicinal Application. Research Center of Traditional Chinese Medicine. Tianjin University of Traditional Chinese Medicine. China. H.-Y. Yeh, C.-H. Chuang, H.-C. Chen, C.-J. Wan, T.-L. Chen, and L.-Y. Lin, 2014, Bioactive Components Analysis of Two Various Gingers (*Zingiber officinale* Rosoe) and Antioxidant Effect of Ginger

- Extracts, *LWT – Food Sci. Technol.*, 55, 329-334
- oligosaccharides and glycosides, *Phytochemistry*, 31, 3307-3330
- Agrawal, P. K., 1992, NMR Spectroscopy in the structural elucidation of
- Tyler, V.E., Brady, L.R., Robbers, J.E., 1988, *Pharmacognosy*, 9th ed., Lea and Fibiger, Philadelphia, 57-81