

AKTIVITAS ANTIOKSIDAN HASIL FRAKSINASI FRAKSI EKSTRAK ETIL ASETAT DAN METANOL DAUN *Garcinia kydia* Roxburgh

Septiani Martha^{1*}, Berna Elya^{2*}, Muhammad Hanafi³

¹Departemen Farmasi, STIFI Bhakti Pertiwi, Palembang

²Departemen Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Indonesia, Depok

³Departemen Kimia, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia, Serpong

Kata Kunci :

Antioksidan, *Garcinia kydia* Roxburgh, DPPH, FRAP

ABSTRAK

Garcinia kydia Roxburgh merupakan salah satu spesies dari genus *garcinia*, yang secara khusus belum banyak diketahui aktivitas senyawa bioaktifnya, namun pada penelitian sebelumnya terbukti berpotensi sebagai agen penghambat α -glukosidase. Pada penelitian ini, akan dilakukan investigasi aktivitas antioksidan terhadap berbagai fraksi hasil kromatografi kolom ekstrak yang diperoleh dari daun *G. kydia*. Metode penelitian dilakukan dengan menentukan aktivitas antioksidan melalui analisis in-vitro menggunakan microplate reader dengan metode radical scavenging (Metode DPPH) dan ferric reducing antioxidant power (Metode FRAP). Hasil menunjukkan bahwa fraksi yang paling aktif dari ekstrak metanol adalah FEA8 (DPPH) dan FEA7 (FRAP), sedangkan fraksi paling aktif dari ekstrak metanol adalah FMT4 (DPPH) dan FMT6 (FRAP). Aktivitas antioksidan tertinggi di antara empat fraksi adalah FEA7 dan FEA8. Aktivitas fraksi FEA7 dan FEA8 ditentukan oleh nilai EC₅₀, sehingga diperoleh masing-masing 9,73 dan 9,26 $\mu\text{g/mL}$ (DPPH); 10,28 dan 13,94 $\mu\text{g/mL}$ (FRAP). *G. kydia* berpotensi sebagai agen antioksidan dengan mekanisme yang berbeda.

PENDAHULUAN

Garcinia merupakan salah satu genus yang termasuk ke dalam famili Clusiaceae dan memiliki jumlah anggota cukup besar yaitu sekitar 1000-1200 spesies yang didistribusikan secara luas terutama di daerah tropis seperti Asia, Afrika dan Polinesia (1). Genus *garcinia* terdiri dari sekelompok tanaman obat dengan agen terapi yang potensial, hal ini dikarenakan seluruh bagian dari tumbuhan telah banyak digunakan secara global sebagai ethnomedicine yang dibuktikan dengan penelitian (2). Beberapa senyawa tersebut menunjukkan berbagai aktivitas biologis, termasuk inhibitor α glukosidase (3), antibakteri (4), antivirus (5), neuroprotektif dan antioksidan (6), sitotoksik (7), antiproliferatif (8), antiinflamasi (9). Aktivitas antioksidan adalah salah satu efek farmakologi dari tanaman *Garcinia* yang sedang dikembangkan.

Antioksidan berperan penting bagi kehidupan saat ini karena antioksidan dapat menetralkan atau menghancurkan radikal bebas seperti *Reactive oxygen species* (ROS) sebelum merusak sel. Oksidasi yang disebabkan oleh ROS menyebabkan disintegrasi membran sel, kerusakan protein membran, dan mutasi DNA. Bila keadaan tersebut berkelanjutan dapat terjadi stress oksidatif yakni keadaan dengan jumlah radikal bebas didalam tubuh melebihi kemampuan tubuh untuk menetralkannya yang mengakibatkan perkembangan berbagai penyakit degeneratif seperti kanker, inflamasi, artritis, dan diabetes mellitus (10).

Beberapa tanaman dari genus *Garcinia* telah diteliti secara ilmiah dan diketahui mempunyai aktivitas sebagai agen antioksidan, antara lain *G. livingstonei*, *G. multiflora*, *G. madruno*, *G. malaccensis*, dan *G. preussii*. Adapun senyawa aktif yang berperan dalam aktivitas antioksidan dari masing-masing tanaman tersebut yakni

benzophenone derivative, biphenyl derivatives, biflavonoid, α -mangostin, dan garciniagifolone (11-15).

Garcinia kydia Roxburgh merupakan salah satu dari genus *garcinia*. Berdasarkan penelitian sebelumnya ekstrak etil asetat dan metanol daun *G. kydia* memiliki kandungan senyawa fitokimia yakni alkaloid, flavonoid, tanin, steroid, terpenoid, antrakuinon dan saponin. Selain itu, telah dilakukan pengujian aktivitas antioksidan terhadap ekstrak etil asetat dan metanol yang diuji menggunakan metode FRAP dengan nilai EC₅₀ sebesar 12,389; 18,448 $\mu\text{g/mL}$ (16) dan metode DPPH dengan nilai EC₅₀ sebesar 11,6; 12,8 $\mu\text{g/mL}$ (17). Namun aktivitas antioksidan hasil fraksinasi ekstrak etil asetat dan metanol daun *G. kydia* Roxb. belum pernah diteliti. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengevaluasi aktivitas antioksidan hasil fraksinasi dengan kolom kromatografi ekstrak methanol dan ekstrak etil asetat *G. kydia*. Sehingga dapat dikembangkan penelitian lebih lanjut dalam mengisolasi senyawa aktif yang berkontribusi terhadap aktivitas antioksidan.

METODE PENELITIAN

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain Metanol, Etil asetat dan n-Heksan (Merck, Jerman), Silika gel (230-400 mesh, Merck), Lempeng KLT silika gel GF₂₅₄ (Merck, 0,25 mm), Kuersetin (Sigma-Aldrich, India), 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) (Sigma-Aldrich, Jerman), FeCl₃, HCl pekat, Natrium asetat, Asam asetat (glasial) (Merck, Jerman), 2,4,6-tripiryridyl-s-triazine (TPTZ) (Sigma-Aldrich, Switzerland).

Masuk 21-05-2020

Revisi 11-08-2020

Diterima 20-08-2020

DOI: 10.20956/mff.v24i2.10074

Korespondensi

Septiani Martha

Septianimartha337@gmail.com

Berna Elya

berna.elya@gmail.com

Copyright

© 2020 Majalah Farmasi

Farmakologi Fakultas Farmasi · Makassar

Diterbitkan tanggal

20 Agustus 2020

Dapat Diakses Daring Pada:

<http://journal.unhas.ac.id/index.php/mff>



Ekstrak Daun *Garcinia kydia* Roxb

Ekstrak etil asetat dan metanol daun *G. kydia* Roxb. diperoleh dari Laboratorium Penelitian Fitokimia, Fakultas Farmasi, Universitas Indonesia (18).

Prosedur Kerja

Fraksinasi Ekstrak Etil Asetat dan Metanol

Ekstrak etil asetat dan metanol (20g), masing-masing difraksinasi dengan kromatografi kolom (diameter 4 cm dan tinggi 50 cm) menggunakan silika gel 60 (230-400 mesh) sebagai fase diam dan campuran pelarut sebagai fase gerak. Pengisian fase diam dalam kolom dilakukan menggunakan metode pengisian cara basah (rasio 1 : 20 terhadap ekstrak). Sampel ekstrak diimpregnasi pada silika gel (rasio 1 : 1) dengan menambahkan sejumlah kecil pelarut etil asetat (ekstrak etil asetat) dan aseton (ekstrak metanol). Campuran diuapkan untuk menghilangkan pelarut yang tersisa sampai sampel diperoleh dalam bentuk bubuk dan dimasukkan ke dalam kolom berisi fase diam. Proses elusi dilakukan dengan *steep gradient polarity* menggunakan pelarut n-heksana, etil asetat, dan metanol. Rasio kombinasi pelarut secara berurutan pada ekstrak etil asetat dimulai dari; n-heksana: etil asetat 90:10, 80:20, 70:30, dan seterusnya hingga perbandingan 0 : 100; dan kemudian etil asetat: metanol 100: 0, 90:10, 80:20, 70: 30, dan seterusnya hingga perbandingan 0:100. Sedangkan pada ekstrak metanol dimulai dari kombinasi pelarut n-heksan:etil asetat (70:30) dan seterusnya sama dengan fraksinasi pada ekstrak etil asetat. Fraksi yang dielus di kumpulkan dalam botol 100mL. Fraksi diuapkan dan diidentifikasi dengan kromatografi lapis tipis (KLT). Fraksi dengan pola kromatogram yang sama digabungkan dan diuji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH dan FRAP (18).

Penentuan Aktivitas Antioksidan

Metode DPPH

Aktivitas antioksidan fraksi ditentukan dengan metode DPPH dengan beberapa modifikasi. Larutan sampel dan DPPH dipreparasi dengan menggunakan metanol sebagai pelarut. Semua fraksi dibuat larutan dengan konsentrasi 100 µg/mL. Fraksi aktif dibuat larutan seri dengan rentang konsentrasi yaitu 25-250 µg/mL untuk menentukan nilai EC₅₀. Larutan uji dipipet 20 µL dimasukkan ke dalam *96-well microtiter plate*, ditambahkan 180 µL DPPH 150 µM, sehingga diperoleh total volume untuk setiap campuran reaksi di dalam setiap sumur adalah 200 µL, sehingga diperoleh konsentrasi akhir yakni 10 µg/mL (fraksi) dan 2,5-25 µg/mL (fraksi aktif). Campuran reaksi selanjutnya diinkubasi pada suhu kamar selama 30 menit dalam gelap dan diukur absorbansinya dengan *microplate reader* (VersaMax tunable) pada λ 516 nm. Larutan metanol digunakan sebagai kontrol negatif dan kuersetin digunakan sebagai kontrol positif pada rentang konsentrasi 1-6µg/mL, diperlakukan dengan kondisi yang sama sebagai sampel (19,20). Aktivitas antioksidan dapat dinyatakan dengan nilai EC₅₀ (*Effective Concentration 50%*) yang dihitung berdasarkan persentase inhibisi radikal DPPH dari masing-masing konsentrasi larutan sampel menggunakan rumus:

$$\% \text{ Inhibisi Radikal DPPH} = \frac{A_c - A_s}{A_c} \times 100$$

Dimana A_c adalah absorbansi kontrol dan A_s adalah absorbansi dari sampel uji (21,22).

Metode FRAP

Uji FRAP dilakukan mengikuti metode yang dilaporkan oleh Maizura *et al* (23). Larutan FRAP dibuat dengan mencampurkan 300mM larutan dapar asetat pH 3,6, larutan

10mM TPTZ di dalam 40mM HCl dan larutan 20mM FeCl₃.6H₂O dengan perbandingan 10:1:1 (v:v:v). Larutan sampel dipreparasi menggunakan metanol sebagai pelarut pada berbagai konsentrasi. Fraksi dibuat larutan dengan konsentrasi 100 µg/mL. Fraksi aktif dibuat larutan seri dengan rentang konsentrasi yaitu 25-250 µg/mL untuk menentukan nilai EC₅₀. Larutan uji dipipet 30 µL dimasukkan ke dalam *96-well microtiter plate*, ditambahkan 270 µL *reagent FRAP*, sehingga diperoleh total volume untuk setiap campuran reaksi di dalam setiap sumur adalah 300 µL, sehingga diperoleh konsentrasi akhir yakni 10 µg/mL (fraksi) dan 2,5-25 µg/mL (fraksi aktif). Campuran reaksi selanjutnya diinkubasi pada suhu kamar selama 30 menit dalam gelap dan diukur absorbansinya dengan *microplate reader* pada λ 593 nm. Larutan metanol digunakan sebagai kontrol negatif dan kuersetin digunakan sebagai kontrol positif pada rentang konsentrasi 1-15µg/mL, diperlakukan dengan kondisi yang sama sebagai sampel (24). Aktivitas antioksidan dapat dinyatakan dengan nilai EC₅₀ yang dihitung berdasarkan persentase aktivitas dalam mereduksi FRAP dari masing-masing konsentrasi larutan sampel menggunakan rumus:

$$\% \text{ Aktivitas} = (\text{Abs1} - \text{Abs0}) \times 100$$

Dimana Abs1 adalah absorbansi larutan FRAP setelah penambahan sampel uji dan Abs0 adalah absorbansi blanko (25).

Analisis Statistik

Nilai EC₅₀ dihitung dengan analisis regresi non-linear menggunakan aplikasi statistika yakni GraphPad Prism 8 dengan memplot kurva antara konsentrasi dan %aktivitas (26)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Garcinia kydia Roxb. merupakan salah spesies dari genus *garcinia* yang banyak dikoleksi oleh Kebun Raya Bogor dan ekstrak n-heksan, etil asetat dan metanol diperoleh dengan metode maserasi bertingkat pada penelitian sebelumnya. Penelitian ini merupakan penelitian lanjutan, sehingga fraksinasi dilakukan terhadap ekstrak yang memiliki potensi sebagai antioksidan dan penghambat α-glukosidase. Berdasarkan penelitian sebelumnya, ekstrak etil asetat (EtOAc) dan metanol (MeOH) daun *G. kydia* Roxb. memiliki aktivitas antioksidan dan penghambat α-glukosidase yang dibuktikan secara *in-vitro* (16-18).

Fraksinasi ekstrak EtOAc dan MeOH menggunakan metode kromatografi kolom dan masing-masing fraksi diidentifikasi dengan KLT untuk menentukan pola kromatogram. Fraksinasi ekstrak EtOAc diperoleh 14 fraksi (FEA1-FEA14) dan ekstrak MeOH diperoleh 17 fraksi (FMT1-FMT17). Hal ini dilakukan agar komponen yang terdiri dari banyak senyawa dalam ekstrak dapat dipisahkan dengan mengelompokkannya berdasarkan sifat polaritas sehingga didapatkan beberapa komponen senyawa dalam fraksi **Tabel 1** dan **Tabel 2**.

Penentuan kapasitas total antioksidan dapat dilakukan dengan berbagai metode secara *in-vitro* dan *in-vivo*. Pengujian kapasitas antioksidan secara *in-vitro* diklasifikasikan menjadi dua jenis berdasarkan reaksi kimia yang terlibat antara senyawa antioksidan dan radikal bebas yakni pengujian berbasis reaksi transfer atom hidrogen (HAT) dan berbasis reaksi transfer elektron (ET) (10). Evaluasi aktivitas antioksidan fraksi dari ekstrak EtOAc dan MeOH daun *G. kydia* Roxb dilakukan dengan menggunakan metode DPPH dan FRAP yang merupakan pengujian berbasis reaksi transfer elektron (ET). Berdasarkan penelitian sebelumnya ada korelasi yang sangat tinggi (R> 0,98) antara dua metode tersebut dengan semua senyawa standar. Hal ini menunjukkan hubungan yang sangat kuat antara

penghambatan radikal bebas dengan potensi mereduksi ion besi (27).

Tabel 1. Hasil fraksinasi ekstrak etil asetat daun *G.kydia*

Fraksi dari ekstrak etil asetat (FEA)	Eluen	Berat Fraksi (g)
FEA1	n-Hx/EtOAc = 9/1	0,823
FEA2	n-Hx/EtOAc = 8/2	0,200
FEA3	n-Hx/EtOAc = 8/2	2,080
FEA4	n-Hx/EtOAc = 7/3	0,232
FEA5	n-Hx/EtOAc = 7/3	0,309
FEA6	n-Hx/EtOAc = 7/3	0,344
FEA7	n-Hx/EtOAc = 5/5	5,929
FEA8	n-Hx/EtOAc = 5/5	1,270
FEA9	n-Hx/EtOAc = 4/6	0,227
FEA10	n-Hx/EtOAc = 4/6	1,277
FEA11	n-Hx/EtOAc = 4/6	1,030
FEA12	n-Hx/EtOAc = 3/7	2,265
FEA13	n-Hx/EtOAc = 3/7	3,709
FEA14	n-Hx/EtOAc = 0/10	5,793

FEA = Fraksi dari ekstrak etil asetat, n-Hx = n-Hexana, EtOAc = etil asetat.

Tabel 2. Hasil fraksinasi ekstrak metanol daun *G.kydia*

Fraksi dari Ekstrak Metanol (FMT)	Eluen	Berat Fraksi (g)
FMT1	n-Hx/EtOAc = 3/7	0,213
FMT2	n-Hx/EtOAc = 2/8	0,029
FMT3	n-Hx/EtOAc = 2/8, 1/9	0,514
FMT4	n-Hx/EtOAc = 1/9, 0/10	1,387
FMT5	EtOAc/MeOH = 9/1	0,230
FMT6	EtOAc/MeOH = 8/2	0,114
FMT7	EtOAc/MeOH = 8/2 - 5/5	8,262
FMT8	EtOAc/MeOH = 5/5, 4/6	6,395
FMT9	EtOAc/MeOH = 4/6, 3/7	1,698
FMT10	EtOAc/MeOH = 3/7	0,606
FMT11	EtOAc/MeOH = 2/8	0,302
FMT12	EtOAc/MeOH = 2/8, 1/9	0,139
FMT13	EtOAc/MeOH = 1/9	0,120
FMT14	EtOAc/MeOH = 1/9, 0/10	0,099
FMT15	EtOAc/MeOH = 0/10	0,098
FMT16	EtOAc/MeOH = 0/10	0,179
FMT17	EtOAc/MeOH = 0/10	0,213

FMT = Fraksi dari Ekstrak Metanol, MeOH = methanol.

Konsentrasi sampel yang digunakan dalam pengujian adalah 10 µg/mL. Hasil pengujian aktivitas antioksidan dengan metode DPPH terhadap fraksi dari ekstrak EtOAc dan MeOH dapat dilihat pada **Tabel 3** dan **Tabel 4**, menunjukkan bahwa fraksi FEA8 adalah fraksi paling aktif sebagai antioksidan dibandingkan fraksi EtOAc lainnya yang ditunjukkan dengan persentase inhibisi sebesar 49,02%, sedangkan fraksi FMT4 menunjukkan aktivitas tertinggi sebagai antioksidan dibandingkan fraksi MeOH lainnya yang ditunjukkan dengan persentase inhibisi sebesar 25,83%. Berdasarkan pengujian antioksidan menggunakan metode DPPH menyatakan bahwa fraksi FEA8 dan FMT4 berpotensi sebagai agen antioksidan. Hal tersebut menandakan adanya aktivitas disebabkan kemampuan komponen senyawa yang dapat mendonorkan proton kepada radikal bebas 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH*), sehingga terbentuk difenil pikril hidrazin (DPPH-H, senyawa non-radikal) yang lebih stabil dan secara

spektrofotometri menurunkan intensitas absorbansi dari radikal DPPH* (28).

Tabel 3. Aktivitas antioksidan hasil fraksinasi ekstrak etil asetat daun *G.kydia*

Fraksi	% Penghambatan ± SEM (DPPH)	% Aktivitas Antioksidan ± SEM (FRAP)
FEA1	2,35 ± 1,38	13,93 ± 0,03
FEA2	3,81 ± 0,21	14,10 ± 0,03
FEA3	4,19 ± 1,06	16,33 ± 0,62
FEA4	4,41 ± 1,91	17,70 ± 0,73
FEA5	5,68 ± 1,42	17,57 ± 0,10
FEA6	9,11 ± 1,40	27,17 ± 2,12
FEA7	24,36 ± 0,57	64,10 ± 4,53
FEA8	49,03 ± 1,84	50,23 ± 3,83
FEA9	30,81 ± 1,96	40,10 ± 3,35
FEA10	3,39 ± 0,51	38,20 ± 2,57
FEA11	24,28 ± 0,69	41,03 ± 1,95
FEA12	9,79 ± 0,74	23,17 ± 0,64
FEA13	10,38 ± 0,37	28,40 ± 0,84
FEA14	3,69 ± 0,22	16,43 ± 0,17

Persentase penghambatan dinyatakan sebagai SEM: Standard error of mean, di mana n = 3

Tabel 4. Aktivitas antioksidan hasil fraksinasi ekstrak metanol daun *G.kydia*

Fraksi	% Penghambatan ± SEM (DPPH)	% Aktivitas Antioksidan ± SEM (FRAP)
FMT1	3,85 ± 1,99	15,57 ± 1,57
FMT2	6,75 ± 0,44	15,70 ± 0,09
FMT3	23,68 ± 1,39	49,60 ± 0,99
FMT4	25,83 ± 0,69	39,50 ± 0,64
FMT5	24,13 ± 1,27	35,03 ± 1,28
FMT6	24,74 ± 1,49	54,97 ± 0,66
FMT7	7,40 ± 1,13	17,10 ± 0,19
FMT8	10,58 ± 1,59	24,57 ± 0,17
FMT9	9,15 ± 1,59	18,10 ± 0,44
FMT10	8,99 ± 0,89	16,97 ± 0,44
FMT11	6,88 ± 0,44	15,93 ± 0,15
FMT12	5,74 ± 0,57	15,30 ± 0,52
FMT13	2,24 ± 0,67	14,93 ± 1,20
FMT14	0,43 ± 0,36	15,90 ± 0,58
FMT15	0,77 ± 0,39	15,27 ± 0,10
FMT16	1,13 ± 0,62	21,97 ± 2,02
FMT17	2,44 ± 0,83	18,80 ± 0,43

%aktivitas dinyatakan sebagai SEM: Standard error of mean, di mana n = 3

Berdasarkan hasil pengujian aktivitas antioksidan dengan metode FRAP dapat dilihat pada **Tabel 3** dan **Tabel 4**, menunjukkan bahwa fraksi FEA7 adalah fraksi yang aktivitas antioksidan tertinggi dibandingkan fraksi EtOAc lainnya, ditunjukkan dengan persentase aktivitas sebesar 64,1%. Sedangkan fraksi FEA8 adalah fraksi tertinggi kedua yang memiliki aktivitas antioksidan dengan persentase aktivitas sebesar 50,2%. Pada fraksi yang diperoleh dari ekstrak MeOH, fraksi yang aktivitas antioksidan tertinggi dibandingkan fraksi MeOH lainnya yakni FMT6 dengan persentase aktivitas sebesar 54,97%. Berdasarkan pengujian antioksidan menggunakan metode FRAP menyatakan bahwa fraksi FEA7 dan FMT6 berpotensi sebagai agen antioksidan. Hal tersebut menandakan aktivitas yang disebabkan kemampuan komponen senyawa mereduksi senyawa

kompleks Fe^{3+} -TPTZ menjadi bentuk besi Fe^{2+} -TPTZ pada pH asam sehingga secara visual terjadinya pembentukan warna biru pada larutan uji yang dimonitor menggunakan spektrofotometer (10).

Hasil pengujian aktivitas antioksidan fraksi dari ekstrak EtOAc dan MeOH menggunakan metode DPPH dan FRAP pada konsentrasi uji 10 $\mu\text{g/mL}$ menunjukkan bahwa fraksi FEA7 dan FEA8 memiliki persentase inhibisi (DPPH) dan persentase aktivitas antioksidan (FRAP) tertinggi dibandingkan fraksi lainnya. Pengujian aktivitas antioksidan FEA7 dan FEA8 dilanjutkan dengan penentuan aktivitas antioksidan yang ditunjukkan melalui nilai EC_{50} yang dibandingkan dengan kuersetin, dapat dilihat pada Tabel 5. Penentuan nilai EC_{50} bertujuan untuk menentukan konsentrasi fraksi yang mampu mereduksi aktivitas DPPH dan senyawa kompleks FRAP yang ditandai adanya penurunan absorbansi radikal mencapai 50% (10). Semakin kecil nilai EC_{50} , maka aktivitas antioksidan dalam menghambat radikal semakin kuat (29). Adapun suatu senyawa dinyatakan sebagai antioksidan dengan kategori sangat kuat jika nilai $EC_{50} < 50 \mu\text{g/mL}$, kuat jika nilai EC_{50} antara 50-100 $\mu\text{g/mL}$, sedang jika nilai EC_{50} antara 101-100 $\mu\text{g/mL}$, lemah jika nilai EC_{50} antara 100-250 $\mu\text{g/mL}$ dan tidak aktif jika EC_{50} diatas 250 $\mu\text{g/mL}$. Hasil pengujian dengan metode DPPH dan FRAP menunjukkan aktivitas antioksidan antara fraksi FEA7 dan FEA8 tidak jauh berbeda dan nilai EC_{50} yang diperoleh dari kedua fraksi dapat dikategori sangat kuat (30).

Tabel 4. Nilai EC_{50} fraksi aktif dan kuersetin

Metode	Nilai EC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	
	DPPH	FRAP
FEA7	9,73 \pm 0,18	10,28 \pm 0,14
FEA8	9,26 \pm 0,23	13,94 \pm 0,65
Kuersetin	3,87 \pm 0,20	12,74 \pm 0,26

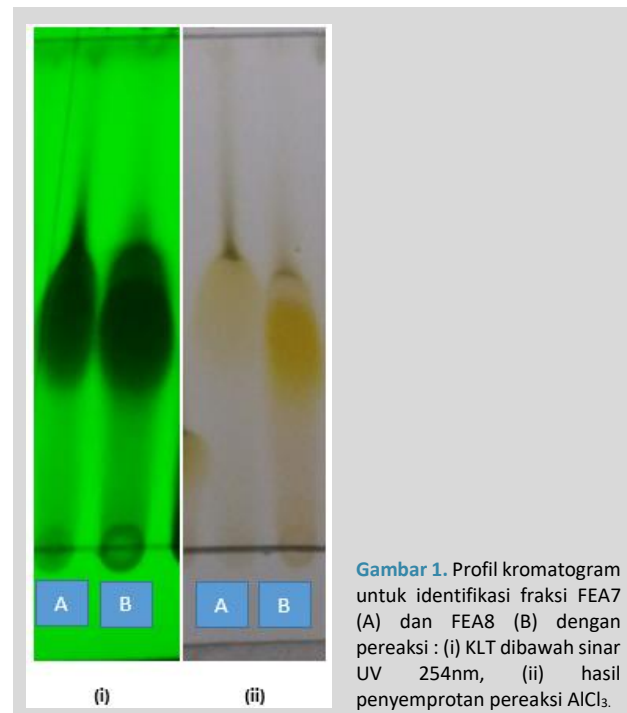
Nilai EC_{50} dinyatakan sebagai SEM: Standard error of mean, di mana n = 3

Nilai EC_{50} fraksi FEA7 dan FEA8 lebih kecil daripada ekstrak etil asetat, namun tidak jauh berbeda yang ditunjukkan dengan nilai EC_{50} ekstrak etil asetat sebesar 12,389 $\mu\text{g/mL}$ (FRAP) dan 11,6 $\mu\text{g/mL}$ (DPPH) dengan kategori sangat kuat (16,17). Proses fraksinasi dalam ekstrak etil asetat dapat memberikan fraksi yang memiliki aktivitas antioksidan lebih baik daripada ekstrak. Hal ini dikarenakan adanya fraksinasi menyebabkan senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak etil asetat berada pada kisaran polaritas yang sama dan terkonsentrasi dalam fraksi FEA7 dan FEA8 (31).

Adanya potensi aktivitas antioksidan fraksi aktif dari ekstrak EtOAc dan MeOH dikaitkan dengan terdapatnya kandungan senyawa fitokimia yang dimiliki oleh *G. kydia* Roxb. yakni flavonoid. Hal ini didukung dengan hasil identifikasi kandungan kimia dengan kromatografi lapis tipis dari fraksi FEA8, dan FMT4 menggunakan fase gerak kloroform : etil asetat : asam format (1:1:0.5) dan penampak noda $AlCl_3$ menunjukkan adanya senyawa flavonoid dengan spot berwarna kuning (Gambar 1). Selain itu telah dilakukan pengujian total flavonoid dengan metode kolorimetri $AlCl_3$ dengan quercetin sebagai kontrol positif menunjukkan 1 gram ekstrak etil asetat mengandung 30,65 mg setara quercetin (16).

Flavonoid merupakan sekelompok senyawa alami dengan struktur fenolik bervariasi yang banyak ditemukan pada tanaman. Aktivitas pemadaman radikal tergantung pada struktur dan substituen pada cincin B. Pemadaman radikal dilakukan dengan jalan mereduksi radikal bebas yang kemudian menghasilkan radikal aroksil yang lebih stabil. Kestabilan radikal aroksil dipengaruhi oleh substituen OH pada cincin B, jumlah OH bebas, derajat delokalisasi elektron

dengan adanya ikatan ganda C2-C3 pada cincin C, gugus katekol pada cincin B, dan adanya gugus 3-OH (OH pada posisi 3) (32).



Gambar 1. Profil kromatogram untuk identifikasi fraksi FEA7 (A) dan FEA8 (B) dengan pereaksi : (i) KLT dibawah sinar UV 254nm, (ii) hasil penyemprotan pereaksi $AlCl_3$.

Senyawa standar positif yang digunakan adalah kuersetin. Aktivitas antioksidan kuersetin dikaitkan dengan struktur kimia, terutama karena keberadaan kelompok gugus hidroksil dalam karbon ketiga dan kelima, ikatan rangkap antara karbon kedua dan ketiga, *polihidroksilasi* pada *cincin aromatik* A dan B, gugus karbonil pada karbon keempat, dan orto-dihidroksi atau katekol dalam cincin-B (33). Hasil pengujian aktivitas antioksidan kuersetin menunjukkan nilai EC_{50} sebesar 3,87 \pm 0,20 $\mu\text{g/mL}$ dengan kategori sangat kuat dibandingkan kedua fraksi pada metode DPPH (30). Namun terdapat perbedaan hasil pada metode FRAP yang menunjukkan nilai EC_{50} kuersetin besar dibandingkan fraksi FEA7, hal ini disebabkan karena kemampuan kuersetin dalam mereduksi Fe^{3+} pada kondisi asam diperkirakan berkurang akibat elektron pada atom oksigen yang terionisasi terstabilkan dengan lebih baik oleh sistem aromatik (27).

Hasil pengujian antioksidan yang diperoleh dari metode DPPH dan FRAP dengan fraksi yang sama terdapat perbedaan nilai EC_{50} . Hal ini disebabkan adanya hubungan struktur-aktivitas antara substituen flavonoid dan metode yang digunakan dalam menentukan kapasitas antioksidan total menyebabkan perbedaan dalam aktivitas antioksidan fraksi, ditandai dengan nilai EC_{50} dari FRAP > DPPH. Pada pengujian DPPH, terdapat 2 substituen flavonoid yang berperan sebagai antioksidan adalah 3'-OH dan 4'-OH pada cincin B. Sedangkan pengujian FRAP, terdapat 3 substituen flavonoid yakni 3'-OH, 4'-OH pada cincin B dan 3 -OH pada cincin C (34).

KESIMPULAN

Hasil pengujian menunjukkan bahwa fraksi paling aktif dari ekstrak EtOAc adalah FEA8 (DPPH) dan FEA7 (FRAP), sedangkan fraksi paling aktif dari ekstrak MeOH adalah FMT4 (DPPH) dan FMT6 (FRAP). Aktivitas antioksidan yang tertinggi diantara keempat fraksi tersebut adalah FEA 8 dan FEA7 dengan nilai EC_{50} sebesar 9,73 \pm 0,18 dan 9,26 \pm 0,23 $\mu\text{g/mL}$ (DPPH) dan 10,28 \pm 0,14 dan 13,94 \pm 0,65 $\mu\text{g/mL}$ (FRAP). Berdasarkan data tersebut aktivitas antioksidan fraksi dari ekstrak EtOAc dan MeOH termasuk kategori sangat kuat dan layak untuk diteliti lebih lanjut mengenai

isolasi senyawa aktif yang berperan dalam aktivitas antioksidan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada Hibah PUPT Grant 2016 atas kesempatan penelitian yang diberikan. Kami ingin mengucapkan terima kasih kepada staf teknis dari Laboratorium Penelitian Fitokimia dan Laboratorium Analisis Kimia Kuantitatif, Fakultas Farmasi di Universitas Indonesia, Depok yang telah membantu dalam pelaksanaan penelitian yang dijelaskan dalam naskah ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Gontijo VS, De Souza TC, Rosa IA, Soares MG, Da Silva MA, Vilegas W, et al. Isolation and evaluation of the antioxidant activity of phenolic constituents of the *Garcinia brasiliensis* epicarp. *Food Chem* [Internet]. 2012;132(3):1230-5. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.10.110>
- Hemshekhkar M, Sunitha K, Santhosh MS, Devaraja S, Kemparaju K, Vishwanath BS, et al. An overview on genus *Garcinia*: Phytochemical and therapeutical aspects. *Phytochem Rev*. 2011;10(3):325-51.
- Fouotsa H, Lannang AM, Mbazoa CD, Rasheed S, Marasini BP, Ali Z, et al. Xanthenes inhibitors of α -glucosidase and glycation from *Garcinia nobilis*. *Phytochem Lett*. 2012;5(2):236-9.
- Mahamodo S, Rivière C, Neut C, Abedini A, Ranarivelo H, Duhal N, et al. Antimicrobial prenylated benzoylphloroglucinol derivatives and xanthenes from the leaves of *Garcinia goudotiana*. *Phytochemistry* [Internet]. 2014;102:162-8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.phytochem.2014.03.006>
- Wu YP, Zhao W, Xia ZY, Kong GH, Lu XP, Hu QF, et al. Three new xanthenes from the stems of *Garcinia oligantha* and their anti-TMV activity. *Phytochem Lett* [Internet]. 2013;6(4):629-32. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.phytol.2013.08.006>
- Supasuteekul C, Nonthitipong W, Tadtong S, Likhitwitayawuid K, Tengamnuay P, Sritularak B. Antioxidant, DNA damage protective, neuroprotective, and α -glucosidase inhibitory activities of a flavonoid glycoside from leaves of *Garcinia gracilis*. *Brazilian J Pharmacogn* [Internet]. 2016;26(3):312-20. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bjpp.2016.01.007>
- Mohamed GA, Al-Abd AM, El-halawany AM, Abdallah HM, Ibrahim SRM. New xanthenes and cytotoxic constituents from *Garcinia mangostana* fruit hulls against human hepatocellular, breast, and colorectal cancer cell lines. *J Ethnopharmacol* [Internet]. 2017;198(October 2016):302-12. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2017.01.030>
- Parveen M, Azaz S, Zafar A, Ahmad F, Silva MR, Silva PSP. Structure elucidation, DNA binding specificity and antiproliferative proficiency of isolated compounds from *Garcinia nervosa*. *J Photochem Photobiol B Biol* [Internet]. 2017;167:176-88. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2016.12.035>
- Wahyuni FS, Ali DAI, Lajis NH, Dachriyanus. Anti-inflammatory activity of isolated compounds from the Stem Bark of *Garcinia cowa* Roxb. *Pharmacogn J*. 2017;9(1):55-7.
- Dontha S. A review on antioxidant methods. *Asian J Pharm Clin Res*. 2016;9(2):14-32.
- Muriithi E, Bojase-Moleta G, Majinda RRT. Benzophenone derivatives from *Garcinia livingstonei* and their antioxidant activities. *Phytochem Lett* [Internet]. 2016;18:29-34. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.phytol.2016.08.019>
- Tian DS, Gu W, Wang LP, Huang LJ, Rao Q, Huang T, et al. Cytotoxic and anti-oxidant biphenyl derivatives from the leaves and twigs of *Garcinia multiflora*. *Phytochem Lett* [Internet]. 2017;19:132-5. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.phytol.2016.12.021>
- Carrillo-Hormaza L, Ramírez AM, Quintero-Ortiz C, Cossio M, Medina S, Ferreres F, et al. Comprehensive characterization and antioxidant activities of the main biflavonoids of *Garcinia madruno*: A novel tropical species for developing functional products. *J Funct Foods* [Internet]. 2016;27(October):503-16. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jff.2016.10.001>
- Taher M, Susanti D, Rezali MF, Zohri FSA, Ichwan SJA, Alkhamaiseh SI, et al. Apoptosis, antimicrobial and antioxidant activities of phytochemicals from *Garcinia malaccensis* Hk.f. *Asian Pac J Trop Med* [Internet]. 2012;5(2):136-41. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S1995-7645\(12\)60012-1](http://dx.doi.org/10.1016/S1995-7645(12)60012-1)
- Biloa Messi B, Ho R, Meli Lannang A, Cressend D, Perron K, Nkengfack AE, et al. Isolation and biological activity of compounds from *Garcinia preussii*. *Pharm Biol*. 2014;52(6):706-11.
- Putri NL, Elya B, Puspitasari N. Antioxidant activity and lipoxygenase inhibition test with total flavonoid content from *Garcinia kydia* roxburgh leaves extract. *Pharmacogn J*. 2017;9(2):280-4.
- Elya B, Katrin, Mun'im A, Hasiholan A, Marlin I, Mailandari M. Antioxidant Activities of Leaves Extracts of Three Species of *Garcinia*. *Int J Med Arom Plants*. 2012;2(4):691-3.
- Martha S, Elya B, Hanafi M. Comparison of inhibitory activity against the α -glucosidase enzymes in the extracts and fractions from leaves of the *Garcinia kydia* Roxburgh. *Asian J Pharm Clin Res*. 2017;10(7):401-4.
- Sanseera D, Liawruangrath B, Pyne SG, Liawruangrath S. Determination of antioxidant and anticancer activities together with total phenol and flavonoid contents of *Cleidion javanicum* Bl. and *Bridelia retusa* (L.) A. Juss. *Chiang Mai J Sci*. 2016;43(3):534-45.
- Jiangseubchatveera N, Liawruangrath S, Teerawutgulrag A, Santiarworn D, Pyne SG, Liawruangrath B. Phytochemical screening, phenolic and flavonoid contents, antioxidant and cytotoxic activities of *Graptophyllum pictum* (L.) Griff. *Chiang Mai J Sci*. 2017;44(1):193-202.
- Juma I. Assessment of antioxidant potentials of the wild and domesticated saprophytic edible mushrooms from Tanzania. *Curr Res Environ Appl Mycol*. 2016;6(1):1-10.
- Nyau V, Prakash S, Rodrigues J, Farrant J. Antioxidant Activities of Bambara Groundnuts as Assessed by FRAP and DPPH Assays. *Am J Food Nutr* [Internet]. 2015;3(1):7-11. Available from: <http://pubs.sciepub.com/ajfn/3/1/2/index.html>
- Maizura M, Aminah A, Aida WMW. Total phenolic content and antioxidant activity of kesum (*Polygonum minus*), ginger (*Zingiber officinale*) and turmeric (*Curcuma longa*) extract. *Int Food Res J*. 2011;18(2).
- Sousa A, Araújo P, Azevedo J, Cruz L, Fernandes I, Mateus N, et al. Antioxidant and antiproliferative properties of 3-deoxyanthocyanidins. *Food Chem*. 2016;192:142-8.
- Pereira ACH, Lenz D, Nogueira BV, Scherer R, Andrade TU, Da Costa HB, et al. Gastroprotective activity of the resin from *Viola oleifera*. *Pharm Biol* [Internet]. 2017;55(1):472-80. Available from: <http://dx.doi.org/10.1080/13880209.2016.1251467>
- Chen Z, Bertin R, Frolidi G. EC50 estimation of antioxidant activity in DPPH* assay using several statistical programs. *Food Chem* [Internet]. 2013;138(1):414-20. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.11.001>
- Maesaroh K, Kurnia D, Al Anshori J. Perbandingan Metode Uji Aktivitas Antioksidan DPPH, FRAP dan FIC Terhadap Asam Askorbat, Asam Galat dan Kuersetin. *Chim Nat Acta*. 2018;6(2):93.
- Alam MN, Bristi NJ, Rafiquzzaman M. Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity. *Saudi Pharm J* [Internet]. 2013;21(2):143-52. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jsps.2012.05.002>
- Molyneux P. The use of the stable free radical diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for estimating anti-oxidant activity. *Songklanakarin J Sci Technol*. 2004;26(May):211-9.
- Blois MS. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical [10]. *Nature*. 1958;181(4617):1199-200.
- Sannigrahi S, Mazuder UK, Pal DK, Parida S, Jain S. Antioxidant potential of crude extract and different fractions of *Enhydra fluctuans* Lour. *Iran J Pharm Res*. 2010;9(1):75-82.
- Kumar S, Pandey AK. Review Article Chemistry and Biological Activities of Flavonoids: An Overview. *Sci World J*. 2013;
- Ozgen S, Kilinc OK, Selamoglu Z. Antioxidant Activity of Quercetin: A Mechanistic Review Kuersetinin Antioksidan Aktivitesi: Mekanik Bir Derleme. *Turkish J Agric -Food Sci Technol* [Internet]. 2016;4(412):1134-8. Available from: www.agrifoodscience.com,
- Csepregi K, Neugart S, Schreiner M, Hideg É. Comparative evaluation of total antioxidant capacities of plant polyphenols. *Molecules*. 2016;21(2):1-17. 0