

## IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1. Hasil

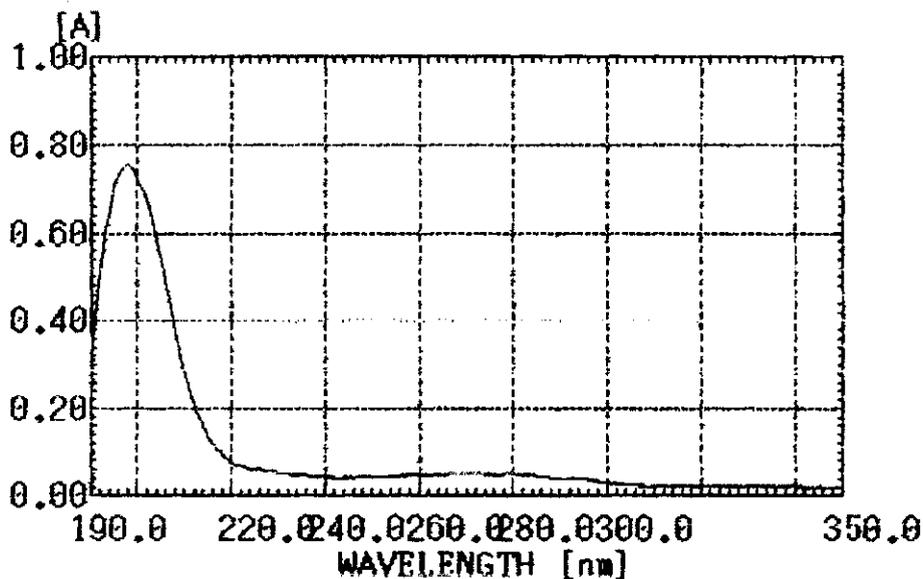
#### 4.1.1. Isolasi daun *Gynura divaricata* dengan pelarut heksana

Daun *Gynura divaricata* setelah dihaluskan (110 gram), kemudian diperkolasi dengan pelarut heksana diperoleh ekstrak kental heksana sebanyak 9,5 g. Ekstrak heksana dilakukan kromatografi kolom dengan eluen heksana dan ditingkatkan kepolarannya dengan etilasetat.

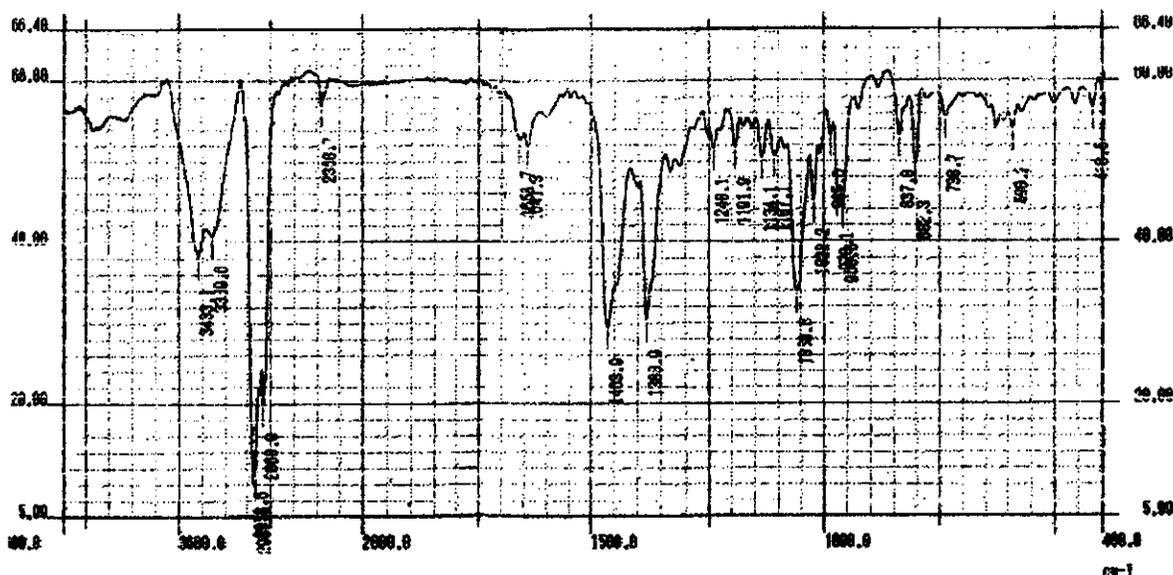
Hasil dari kromatografi kolom diperoleh 4 fraksi. Dari fraksi 3 diperoleh senyawa murni berupa kristal yang diberi nama Gdh (19 mg) dengan titik leleh 126-128°C. Kristal Gdh mempunyai  $R_f = 0,35$  (Kloroform);  $0,69$  (heksana : etilasetat = 9 : 1);  $0,84$  (heksana : etilasetat = 7 : 3).

Hasil pengukuran spektroskopi ultraviolet senyawa Gdh menyerap pada  $\lambda_{maks}$  (metanol) 197,5 nm dan dengan penambahan basa tidak terjadi efek batokromik (Gambar 1).

Hasil pengukuran spektroskopi inframerah senyawa Gdh menghasilkan daerah serapan pada bilangan gelombang  $3433\text{ cm}^{-1}$ ,  $3309\text{ cm}^{-1}$ ,  $2958\text{ cm}^{-1}$ ,  $1658\text{ cm}^{-1}$ ,  $1464\text{ cm}^{-1}$ ,  $1380\text{ cm}^{-1}$ , dan  $1059\text{ cm}^{-1}$  (Gambar 2).



Gambar 1. Spektrum ultraviolet senyawa Gdh



Gambar 2. Spektrum inframerah senyawa Gdh

Aktivitas antioksidan ekstrak heksana daun *Gynura divaricata* yang mempunyai nilai absorbansi rendah menunjukkan aktivitas antioksidan yang tinggi. Bila dilihat pada Tabel 1, yang mempunyai aktivitas tertinggi adalah fraksi 3 > fraksi 2 >  $\alpha$ -tokoferol > fraksi 1 > fraksi 4. Data selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 1 dan Gambar 3.

Tabel 1 Nilai absorbansi fraksi-fraksi heksana, senyawa murni dan senyawa standar

| Sampel                         | Absorbansi pada hari ke- |       |       |       |       |       |
|--------------------------------|--------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|
|                                | 0                        | 1     | 2     | 3     | 4     | 5     |
| Kontrol                        | 0,159                    | 0,242 | 0,672 | 1,160 | 0,815 | 0,516 |
| Standar ( $\alpha$ -tokoferol) | 0,119                    | 0,227 | 0,448 | 0,656 | 0,478 | 0,420 |
| Fraksi 1                       | 0,136                    | 0,235 | 0,322 | 0,566 | 0,486 | 0,404 |
| Fraksi 2                       | 0,148                    | 0,241 | 0,440 | 0,644 | 0,242 | 0,291 |
| Fraksi 3                       | 0,145                    | 0,220 | 0,444 | 0,638 | 0,337 | 0,269 |
| Fraksi 4                       | 0,149                    | 0,225 | 0,376 | 0,636 | 0,454 | 0,478 |

Hasil pengukuran aktivitas antioksidan senyawa Gdh dibandingkan dengan senyawa pembanding  $\alpha$ -tokoferol terlihat pada Tabel 2 dan Gambar 4.

**Tabel 2.** Pengukuran absorbansi senyawa Gdh dan senyawa pembanding  $\alpha$ -tokoferol

| Sampel                         | Absorbansi pada hari ke- |       |       |       |       |
|--------------------------------|--------------------------|-------|-------|-------|-------|
|                                | 0                        | 1     | 2     | 3     | 4     |
| Kontrol                        | 0,006                    | 0,008 | 0,059 | 0,810 | 0,173 |
| Standar ( $\alpha$ -tokoferol) | 0,005                    | 0,006 | 0,006 | 0,008 | 0,005 |
| Senyawa Gdh                    | 0,005                    | 0,006 | 0,038 | 0,012 | 0,015 |

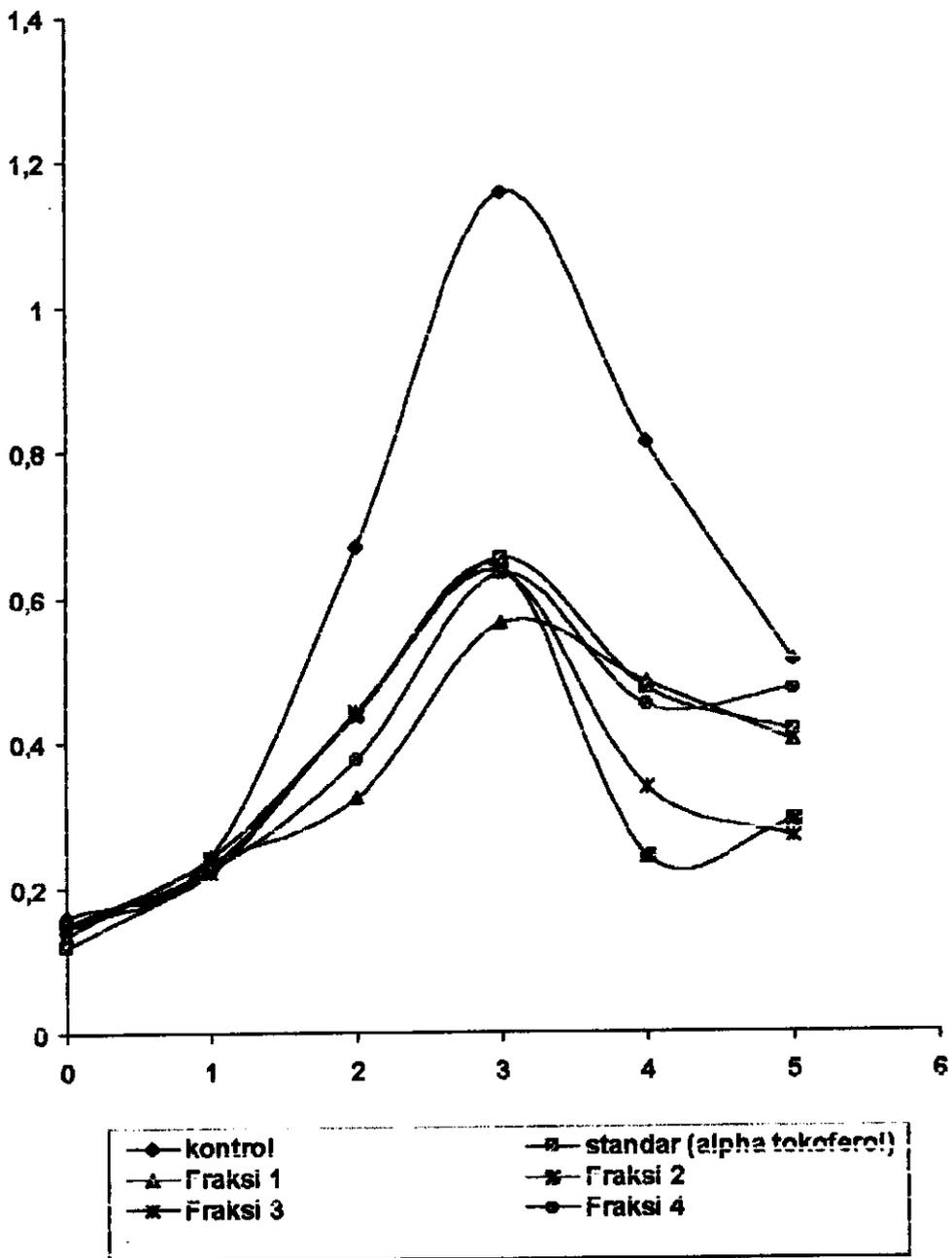
#### 4.1.2. Isolasi daun *Gynura divaricata* dengan pelarut metanol

Residu dari maserasi dengan heksana dilanjutkan dengan pelarut metanol beberapa kali sampai perkolat terakhir negatif terhadap uji fenolik (pereaksi  $\text{FeCl}_3$ ). Perkolat yang diperoleh diuapkan metanolnya sehingga diperoleh ekstrak metanol. Ekstrak metanol (11,08 g) di fraksinasi dengan kromatografi kolom diperoleh sebanyak 4 fraksi yang berbeda. Fraksi 4 berupa padatan dilakukan rekristalisasi diperoleh kristal yang diberi nama Gdm. Senyawa Gdm mempunyai titik leleh  $295\text{-}297^\circ\text{C}$ . Senyawa Gdm memberikan satu noda dengan berbagai sistem eluen, yaitu  $R_f = 0,27$  (etilasetat : metanol = 9 : 1);  $0,45$  (etilasetat : metanol = 8 : 2) dan  $0,80$  (etilasetat : etanol = 5 : 5).

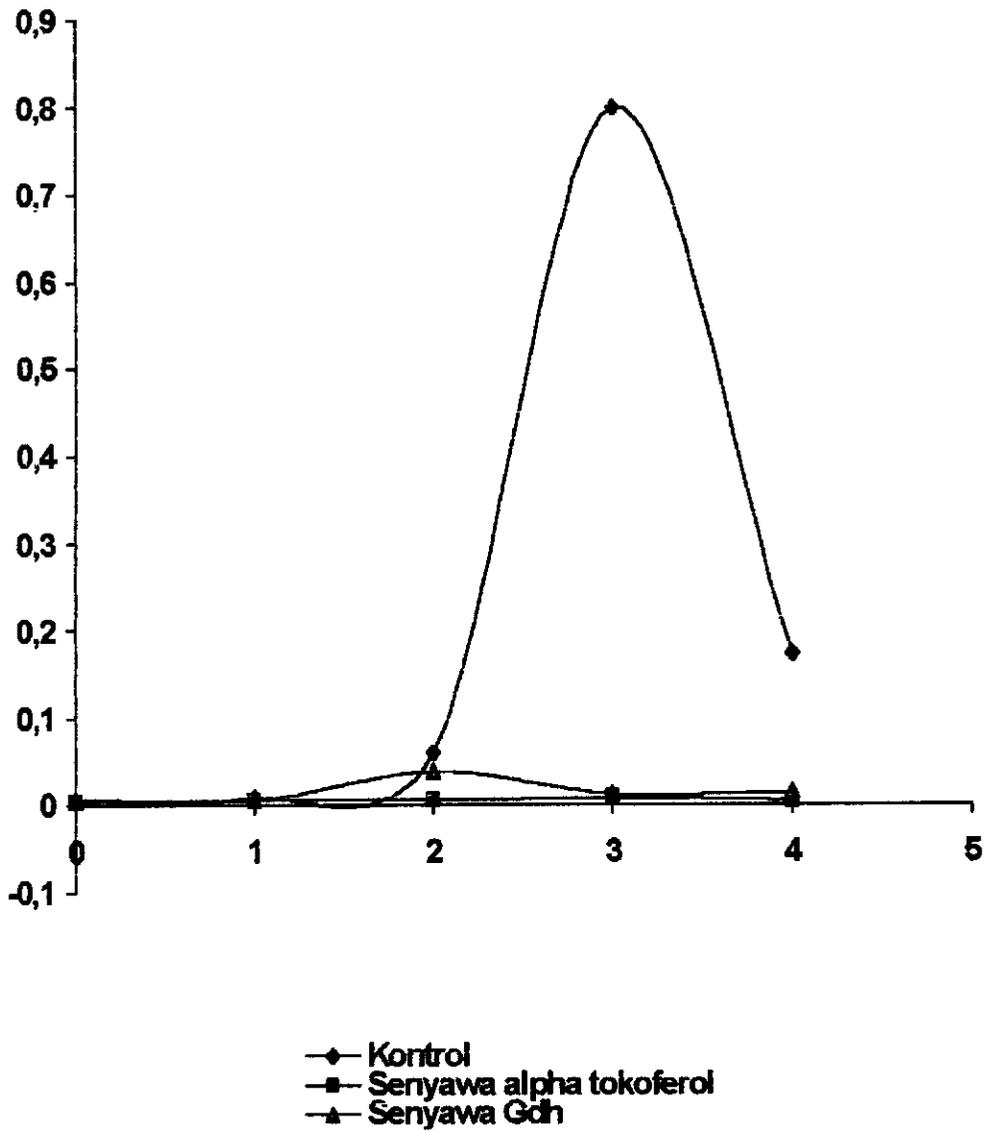
Hasil uji aktivitas antioksidan fraksi-fraksi metanol, senyawa Gdm dan senyawa pembanding  $\alpha$ -tokoferol terlihat pada Tabel 3 dan Gambar 5 di bawah ini.

**Tabel 3.** Pengukuran absorbansi fraksi-fraksi metanol dan senyawa Gdm

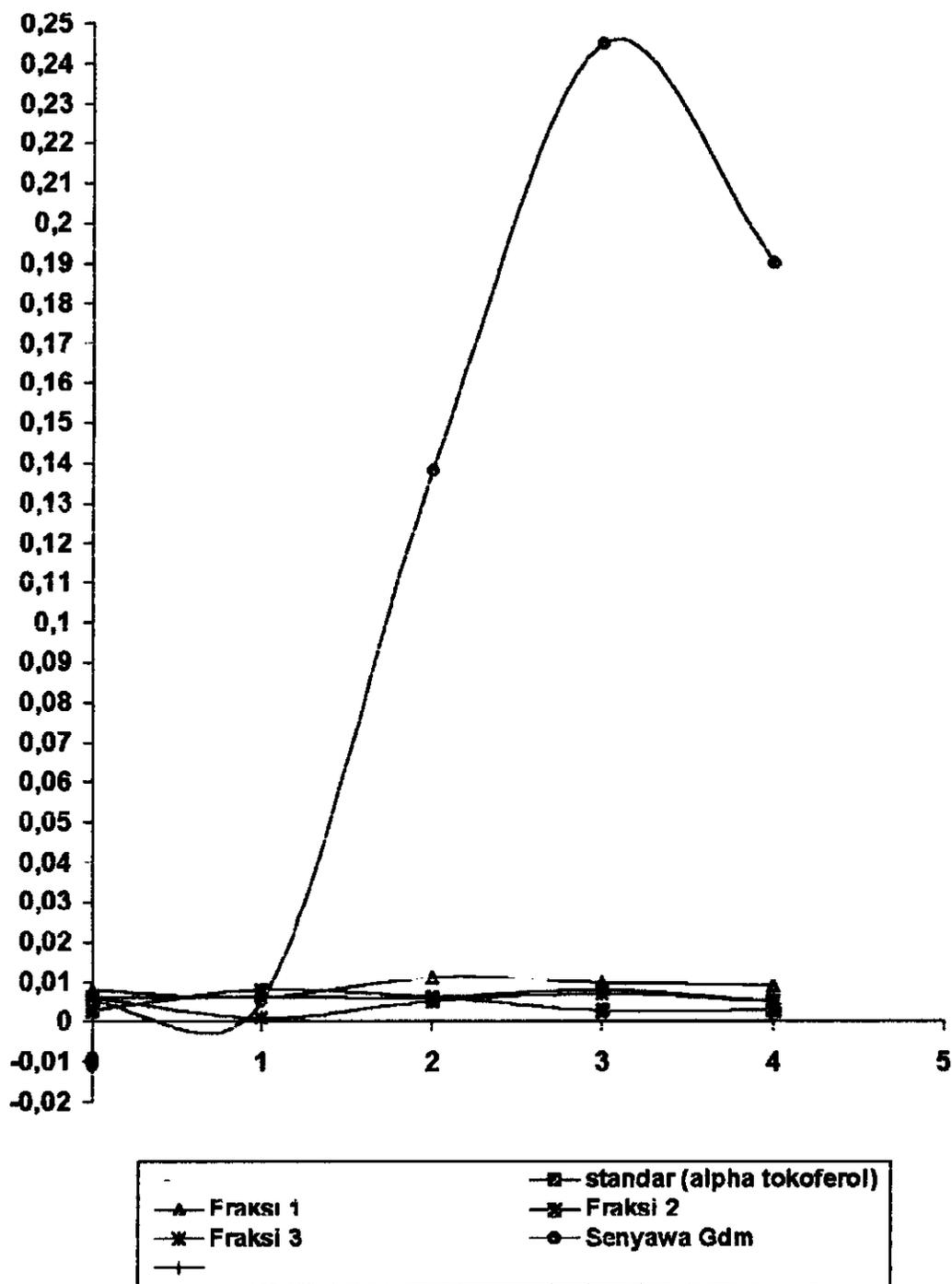
| Sampel                         | Absorbansi pada hari ke- |        |       |       |       |
|--------------------------------|--------------------------|--------|-------|-------|-------|
|                                | 0                        | 1      | 2     | 3     | 4     |
| Kontrol                        | -0,005                   | -0,006 | 0,059 | 0,810 | 0,173 |
| Standar ( $\alpha$ -tokoferol) | 0,006                    | 0,006  | 0,006 | 0,008 | 0,005 |
| Fraksi 1                       | 0,008                    | 0,006  | 0,011 | 0,010 | 0,009 |
| Fraksi 2                       | 0,003                    | 0,008  | 0,006 | 0,003 | 0,003 |
| Fraksi 3                       | 0,006                    | 0,001  | 0,005 | 0,007 | 0,005 |
| Senyawa Gdm                    | 0,005                    | 0,005  | 0,138 | 0,245 | 0,190 |



Gambar 3. Diagram hasil pengukuran absorbansi fraksi-fraksi heksana daun dewa



**Gambar 4.** Diagram hasil pengukuran absorbansi senyawa Gdlh dan senyawa  $\alpha$ -tokoferol



Gambar 5. Diagram hasil pengukuran absorbansi fraksi-frasi metanol dan senyawa Gdm

## 4.2. Pembahasan

### 4.2.1. Ekstrak heksana

Ekstrak heksana setelah dilakukan fraksinasi dengan kromatografi kolom diperoleh 4 fraksi yang berbeda. Dari 4 fraksi tersebut, fraksi 3 berhasil diperoleh senyawa murni berupa kristal yang diberi nama Gdh sebanyak 19 mg. Kristal Gdh mempunyai titik leleh 126-128°C. Kristal ini juga dilakukan uji kemurnian dengan kromatografi lapis tipis dan memberikan satu noda dengan berbagai sistem eluen.

Dari spektrum UV dan IR, diketahui bahwa senyawa Gdh mempunyai gugus -OH (bilangan gelombang 3433 dan 3309  $\text{cm}^{-1}$ ) dan ikatan rangkap C=C (bilangan gelombang 1658  $\text{cm}^{-1}$ ). Ikatan rangkap yang terdapat pada senyawa Gdh sistemnya tidak berkonjugasi, ini dibuktikan dengan serapan pada spektroskopi UV pada panjang gelombang 197,5 nm (Gambar 1).

### 4.2.2. Ekstrak Metanol

Dari ekstrak metanol setelah dilakukan pemisahan dengan kromatografi kolom diperoleh 4 fraksi, ini berarti minimal ada 4 senyawa yang ada dalam ekstrak metanol. Dari fraksi 4 diperoleh senyawa murni, dan diberi nama Gdm. Senyawa Gdm mempunyai titik leleh 295-297°C. Senyawa ini telah memberikan satu noda dengan plat KLT dengan sistem eluen berbeda.

## 4.3. Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi-fraksi Ekstrak Heksana dan Metanol

Uji aktivitas antioksidan telah dilakukan dengan menggunakan metode *ferric thiocyanate* (FTC). Uji aktivitas antioksidan dilakukan terhadap sampel, senyawa pembanding ( $\alpha$ -tokoferol) dan larutan kontrol. Prinsip uji ini adalah melihat efek penghambatan sampel terhadap proses oksidasi.

Hasil uji aktivitas antioksidan terhadap fraksi-fraksi heksana menunjukkan hasil yang cukup baik. Fraksi 2 dan fraksi 3, pada hari kedua uji menunjukkan nilai absorbansi lebih rendah dari senyawa pembanding ( $\alpha$ -tokoferol). Fraksi 1 sifat antioksidannya kurang stabil, ini terlihat pada hari kedua sampai hari ketiga nilai absorbansinya rendah tetapi pada hari selanjutnya nilai absorbansi lebih tinggi, berarti proses penghambatan proses oksidasi oleh sampel tidak berjalan (Tabel 1 dan Gambar 3).

Kristal Gdh yang diperoleh dari fraksi 3 mempunyai sifat antioksidan sedikit lebih rendah dari senyawa  $\alpha$ -tokoferol (Tabel 2).

Hasil uji aktivitas antioksidan terhadap fraksi-fraksi ekstrak metanol menunjukkan bahwa semua fraksi dapat menghambat proses oksidasi dari asam linoleat. Fraksi 2 dan fraksi 3 bersifat antioksidan lebih baik dari senyawa pembanding  $\alpha$ -tokoferol. Urutan selengkapnya adalah fraksi 2 > fraksi 3 >  $\alpha$ -tokoferol > fraksi 1 > senyawa Gdm. (Tabel 3 dan Gambar 5).

Senyawa Gdm aktivitasnya hampir sama dengan senyawa pembanding, tetapi kurang stabil, hal ini dapat dilihat dari harga/nilai absorbansi yang terus naik.

Terjadinya oksidasi akan memberikan produk berupa peroksida. Peroksida yang terbentuk akan berwarna dengan pereaksi besi (III) dan diukur pada sinar tampak. Selama pengukuran, intensitas warna larutan uji akan meningkat dengan bertambahnya waktu inkubasi. Semakin besar intensitas warna maka serapan akan semakin meningkat. Berdasarkan hukum Lambert-Beer, diketahui bahwa penyerapan cahaya merupakan fungsi konsentrasi molekul yang menyerap, artinya semakin besar absorbansi maka semakin banyak asam linoleat yang teroksidasi.

Menurut Torel (1986) dan Sidik (1997) senyawa-senyawa polar flavonoid mempunyai aktivitas antioksidan yang tinggi, hal ini disebabkan oleh adanya gugus -OH pada cincin aromatik, karena terjadinya penyumbangan sejumlah atom hidrogen ke radikal peroksi sehingga mengakhiri reaksi berantai dari radikal bebas. Senyawa-senyawa yang mempunyai ikatan rangkap berkonjugasi juga dapat bersifat antioksidan karena ikatan rangkap ini mudah mengalami oksidasi, seperti senyawa  $\beta$ -karoten, dikenal sebagai senyawa yang bersifat antioksidan.