

## Isolasi dan Uji Aktivitas Antioksidan Metabolit Sekunder dari Ekstrak Etil Asetat Kulit Batang Kangkang Katup (*Bauhinia semibifida* Roxb)

Haiyul Fadhli\*, Anita Lukman, Robiatun Adawiyah

Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Riau, Riau, Indonesia

\*Corresponding Author: [haiyulfadhli@stifar-riau.ac.id](mailto:haiyulfadhli@stifar-riau.ac.id)

Received: November,06,2019 /Accepted: June, 29,2020

doi: 10.24252/al-kimiav8i1.10152

**Abstract:** Antioxidant was a compound which possessed an activity as scavenger of free radicals. This study was aimed to examine the antioxidant activity of ethyl acetate fraction and isolated compound from stem barks of *Bauhinia semibifida* Roxb. Samples extracted by gradual maceration with *n*-hexane solvent, ethyl acetate and methanol respectively. Isolation was carried out using Vacuum Liquid Chromatography and purification by column chromatography with Sephadex LH-20. Isolated compound obtained was ivory crystallin solid with melting point 163-165°C. Antioxidant activity were evaluated by using DPPH method for ethyl acetate fraction and isolation compound in serial concentration of 1000; 500; 250; 125; 62,5; 31,25 ug/mL. The result found that ethyl acetate fraction (f4 and f11) of stem barks of *Bauhinia semibifida* showed antioxidant activity with IC<sub>50</sub> value of >1000 ug/mL; 179 ug/mL. In conclusion, F11 from ethyl acetate extract from stem barks of *Bauhinia semibifida* Roxb. exhibited an activity as scavenger of free radicals from DPPH.

**Key word:** antioxidant, *Bauhinia semibifida* Roxb, IC<sub>50</sub>, VLC

### PENDAHULUAN

Indonesia sebagai salah satu negara agraris yang kaya akan sumber daya alam, memiliki beragam tumbuhan yang berpotensi besar untuk dimanfaatkan. Salah satunya sebagai sumber antioksidan alami (Ayucitra et al., 2013). Telah dilaporkan berbagai jenis tumbuhan yang mengandung metabolit sekunder yang berkhasiat sebagai obat, namun diperkirakan masih banyak tumbuhan yang belum teridentifikasi yang berpotensi sebagai sumber obat baru. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian ilmiah untuk mengetahui kandungan kimia dan uji aktivitas pada tumbuhan tersebut (Tjitrosoepomo, 1994).

Salah satu tumbuhan obat yang telah lama diketahui sebagai obat tradisional dan memiliki khasiat mengobati pegal linu adalah *Bauhinia semibifida* Roxb (Lovadi & Linda, 2015). Tumbuhan *Bauhinia semibifida* Roxb ini oleh masyarakat Melayu Lingga dikenal dengan Kangkang katup atau dikenal juga dengan pohon bunga kupu-kupu. Dimana masyarakat Melayu Lingga tersebut menggunakan tumbuhan tersebut untuk menjaga stamina tubuh (Fitmawati et al., 2017).

Berdasarkan studi literatur menunjukkan bahwa tumbuhan Kangkang katup ini belum begitu banyak dilakukan (Fitmawati et al., 2017). Beberapa penelitian sebelumnya, Fadhli et al., (2019) telah melaporkan bahwa ekstrak etil asetat *Bauhinia semibifida* Roxb memiliki aktivitas antioksidan kuat dengan IC<sub>50</sub> sebesar 30,15 µg/mL dan nilai AAI sebesar 1.32. Selain itu, pada penelitian Tanjung & Tjahjandarie (2014) mengenai isolasi senyawa metabolit sekunder dari spesies *Bauhinia semibifida* Roxb, diketahui bahwa ekstrak metanol kulit batang *Bauhinia semibifida* Roxb mengandung senyawa flavonoid berupa 6C-7O-dimethylaromadendrin dan phlorizin, dan memiliki aktivitas antioksidan

dengan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 6,6247 ppm. Sedangkan penelitian lain oleh Fadhli et al., (2019) terhadap fraksi alkaloid kulit batang *Bauhinia semibifida* Roxb memiliki aktivitas antioksidan lemah dengan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 429,64 µg/mL

Oleh karena itu, dari permasalahan diatas, maka dilakukan penelitian isolasi senyawa antioksidan dari ekstrak etil asetat kulit batang *Bauhinia semibifida* Roxb yang diperoleh dari KHDTK Bukit Suligi, sehingga diharapkan dapat memperoleh senyawa alternatif sebagai antioksidan baru.

## METODE PENELITIAN

### Alat dan Bahan

Sampel yang digunakan yaitu kulit batang kangkang katup (*Bauhinia semibifida* Roxb) yang diperoleh dari KHDTK Bukit Suligi. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah pelarut *n*-heksana, etil asetat, metanol, aquadest, kloroform, amoniak, logam magnesium, larutan FeCl<sub>3</sub> 1%, HCl pekat, norit, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 2N, plat KLT (Merck), silika gel 60 (230-400 mesh, Merck), pereaksi Liebermann-Burchard, pereaksi Mayer, DPPH (Sigma-aldrich), Vitamin C.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu satu set alat destilasi, peralatan gelas (Pyrex), satu set alat *rotary evaporator* (Buchi), lumpang, neraca analitik, seperangkat kolom VLC, sephadex LH-20, vial, pipa kapiler, *chamber*, lampu UV penampak noda 254 dan 366 nm (Camag), alat penentu titik leleh *Stuart Melting Point Apparatus* (SMP-11), spektrofotometer UV-Vis (*Shimadzu*), spektrofotometer FT-IR (*Shimadzu*), *microplate reader* (Berthold), pipet mikro.

### Prosedur

#### Pembuatan Ekstrak

Sebanyak 2 kg sampel kulit batang Kangkang katup yang sudah dikeringkan dan dihaluskan, diekstraksi dengan metode maserasi bertingkat. Terlebih dahulu sampel dimaserasi menggunakan pelarut *n*-heksana selama 3 hari dengan 3 kali pengulangan dalam botol gelap yang tertutup baik sehingga terlindung dari cahaya. Pada hari ketiga dilakukan penyaringan untuk memisahkan maserat dengan ampas. Setelah 3 kali pengulangan ampas direndam kembali dengan etil asetat dan dibiarkan selama 3 hari dengan 3 kali pengulangan, pada hari ketiga dilakukan penyaringan. Hasil maserasi berupa maserat etil asetat dipisahkan dengan *rotary evaporator* sehingga didapatkan ekstrak kental etil asetat sebanyak 69,76 gram.

#### Isolasi Senyawa dengan *Vacuum Liquid Chromatography* (VLC)

Sebanyak 20 gram ekstrak etil asetat kulit batang Kangkang katup dimasukkan kedalam corong Buchner diatas silika gel 60 (230-400 mesh), kemudian diratakan, lalu dielus dengan menggunakan bantuan vakum agar didapatkan kerapatan maksimal. Ekstrak yang telah dimasukkan pada kolom masing-masing dielus dengan campuran beberapa eluen *n*-heksana dengan etil asetat dan etil asetat dengan metanol, diantaranya *n*-heksana 100%, *n*-heksana:etil asetat (9:1), (8:2), (7:3), (6:4), (5:5), (4:6), (3:7), (2:8), (1:9), etil asetat 100%, etil asetat:metanol (9:1), (8:2), (7:3), (6:4), (5:5), (4:6), (3:7), (2:8), (1:9) dan metanol 100%. Hasil kromatografi kolom vakum ditampung dalam Erlenmeyer kemudian dipisahkan kembali dengan *rotary evaporator* dan dikumpulkan dalam vial, lalu dimonitor dengan KLT.

### ***Pengujian Hasil VLC dengan KLT***

Hasil pemisahan VLC selanjutnya dilakukan uji KLT untuk melihat pola pemisahan. Proses pengujian dilakukan dengan cara diambil tiap fraksi hasil VLC yang akan diuji. Kemudian masing-masing fraksi ditotolkan pada plat KLT yang telah diberi nomor sesuai dengan label pada vial yang diuji. Lakukan elusi dengan eluen yang sesuai sampai garis batas atas pada plat KLT. Plat dikeluarkan dan dikeringkan untuk melihat pola noda yang dihasilkan dapat dilakukan dengan penyinaran lampu UV dengan panjang gelombang 254 nm dan 366 nm atau pereaksi penampak noda. Hasil fraksi didapatkan pola noda yang bagus pada fraksi 4 atau pada eluen *n*-heksana:etil asetat (7:3) dan fraksi 11 yang kemudian dilanjutkan uji aktivitas antioksidan dengan menggunakan *microplate reader*. Pada fraksi 4 ini juga memperlihatkan pembentukan kristal pada dinding erlenmeyer.

Fraksi 4 yang didapat dilakukan pemurnian dengan cara direkristalisasi dengan melarutkan sedikit mungkin dalam pelarut etil asetat, kemudian ditambahkan pelarut *n*-heksana dalam jumlah yang banyak. Lalu dilakukan pemisahan kembali dengan kolom kromatografi dengan sephadex LH-20.

### ***Uji Pendahuluan Antioksidan Hasil VLC***

Metode uji pendahuluan dilakukan sesuai dengan metode Demirezer *et al.*, (2001), kromatogram dari hasil VLC yang telah diperoleh dikeringkan dan disemprot dengan larutan DPPH 0,2% dalam metanol. Kromatogram diperiksa 30 menit setelah penyemprotan. Senyawa aktif penangkap radikal bebas akan menunjukkan bercak berwarna kuning pucat dengan latar belakang ungu. Fraksi yang aktif (Fraksi 4 dan Fraksi 11) kemudian dilanjutkan uji aktifitas antioksidan dengan menggunakan *microplate reader*.

### ***Karakterisasi Senyawa Hasil Isolasi***

Senyawa yang telah murni, diidentifikasi lebih lanjut meliputi pemeriksaan organoleptis, sifat fisika, dan sifat kimia kemudian dilakukan analisis senyawa secara spektroskopi menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan spektrofotometer FT-IR.

### ***Uji Aktivitas Antioksidan***

Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode DPPH menggunakan *microplate reader* seperti metode yang dilakukan oleh Kedare & Singh (2011) yang telah dimodifikasi (Fadhli et al., 2018b). *Plate* yang digunakan terdiri dari baris A-H dengan masing-masing berjumlah 12 sumur. Fraksi yang potensial dan senyawa isolat masing-masing diambil sebanyak 2 mg dilarutkan dalam 2 mL metanol sehingga konsentrasi sampel 1000 µg/mL. Pada baris A dimasukkan senyawa isolat sebanyak 100 µL dari larutan induk, ditambahkan metanol 50 µL pada masing-masing baris B-H baris dipipet sebanyak 50µL masukkan ke C, dan begitu seterusnya sampai baris F. Maka dengan begitu diperoleh konsentrasi A-F secara urut adalah 1000, 500, 250, 125, 62,5 dan 31,5 µg/mL. Baris G dan H diisi dengan pelarut metanol 50 µg/L. Kemudian ditambahkan DPPH sebanyak dengan konsentrasi 100 µg/mL. Lakukan inkubasi selama 30 menit pada suhu ruangan dan terhindar dari cahaya. Pengukuran menggunakan *microplate reader* dan aktivitas penangkapan radikal ditandai terjadi perbandingan adalah asam askorbat dengan konsentrasi 100; 50; 25; 12,5; 6,25; 3,125 µg/mL. Kemudian dilakukan perhitungan nilai % inhibisi dan nilai IC<sub>50</sub>.

### **Analisa Data**

Data yang diperoleh dianalisa secara deskriptif disajikan dalam bentuk data, tabel ataupun gambar. Nilai persentase inhibisi yang diwakili oleh nilai  $IC_{50}$  dihitung dengan rumus :

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Abs. DPPH} - \text{Abs. Sampel}}{\text{Absorbansi DPPH}} \times 100 \quad (1)$$

Penetapan  $IC_{50}$  dilakukan dengan persamaan grafik linear antara konsentrasi larutan uji (x) dengan % peredaman (y) yang diperoleh dibandingkan dengan  $IC_{50}$  asam askorbat.

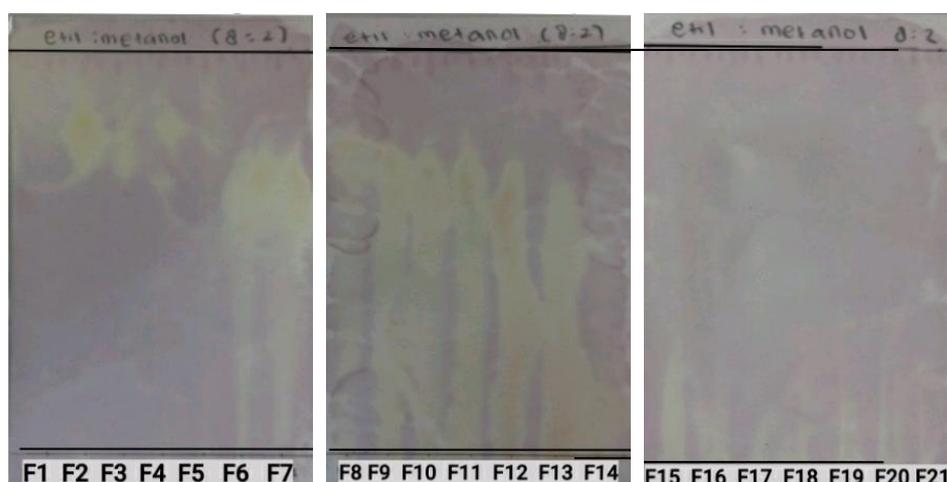
### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

Sebanyak 20 gram ekstrak etil asetat dilakukan pemisahan dengan menggunakan metode kromatografi kolom vakum cair, yang digabungkan dengan Erlenmeyer yang mempunyai lengan yang dihubungkan dengan selang ke pompa vakum. Kromatografi kolom vakum cair dapat digunakan untuk pemisahan senyawa baik dalam bentuk padat maupun dalam bentuk cair dan pengerjaannya juga lebih mudah dilakukan.

Pengkoloman dilakukan menggunakan silika gel silika gel 60 (230-400 mesh) dimasukan ke dalam corong *buchner* lalu dipadatkan dan dielusi dengan pelarut *n*-heksana. Setelah itu silika gel dimasukan ke dalam kolom. Kemudian hidupkan vakum untuk meratakan silika, setelah rata vakum dimatikan supaya tidak ada lagi gelembung udara di dalamnya yang dapat membuat pemisahan menjadi tidak maksimal. Selanjutnya dibuat preadsorpsi fraksi etil asetat dengan silika gel dengan perbandingan 1:1 dengan tujuan untuk memudahkan fraksi masuk ke dalam kolom (Hostettmann, et al., 1995; Sastrohamidjojo, 2002).

Pengelusian dilakukan dengan menggunakan pelarut berdasarkan metode SGP (*Step Gradient Polarity*) dimulai dari perbandingan eluen dari pelarut non polar (*n*-heksana), semi polar (etil asetat) hingga pelarut yang polar (metanol). Sistem pemilihan eluen dengan metode SGP ini dilakukan karena silika gel yang berada dalam kolom akan mengikat kuat senyawa-senyawa yang polar karena silika gel juga bersifat polar dan sehingga senyawa-senyawa yang non polar dari kolom akan keluar terlebih dahulu. Eluen akan ditingkatkan kepolarannya apabila pita yang turun dengan eluen sebelumnya telah terelusi semua dan ditampung dalam Erlenmeyer. Hal ini ditandai dengan melihat intensitas warna yang mulai berkurang. Volume eluen yang digunakan 200 mL untuk mengelusi pita pada kolom agar turun semuanya. Perbandingan yang digunakan yaitu 21 perbandingan.

Uji pendahuluan antioksidan metode Demirezer (2001), bertujuan untuk mengetahui secara kualitatif keberadaan senyawa yang berperan sebagai senyawa antioksidan (Kedare dan Singh, 2011). Kromatogram dari hasil VLC yang telah diperoleh dikeringkan dan disemprot 0,2% DPPH dalam metanol. Kromatogram diperiksa 30 menit setelah penyemprotan senyawa aktif penangkap radikal bebas akan menunjukkan bercak berwarna kuning pucat dengan latar belakang ungu. Fraksi yang menunjukkan warna yang lebih bagus ditunjukkan pada fraksi 4 dan fraksi 11 kemudian dilanjutkan uji aktivitas antioksidan dengan menggunakan *microplate reader*.



**Gambar 1.** Profil Kromatografi Lapis Tipis Hasil Kolom Vakum Cair Ekstrak Etil Asetat Kulit Batang Kangkang katup (*Bauhinia semibifida* Roxb.) setelah disemprot larutan DPPH 0,2%

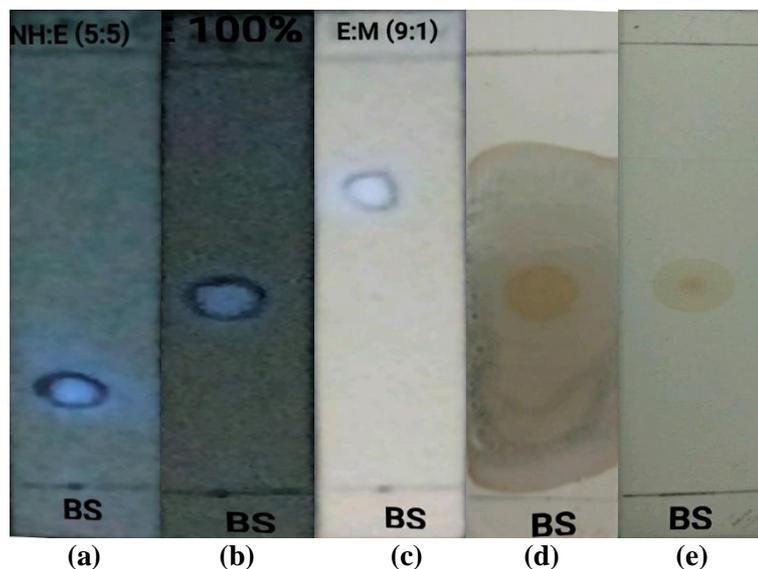
Hasil kromatografi vakum cair dipekatkan lagi dengan *rotary evaporator* dan dikumpulkan dalam vial. Lalu dimonitor dengan KLT, pola nodanya diamati dibawah lampu UV dengan panjang gelombang 254 nm dan 366 nm hasil fraksi didapatkan pola noda yang bagus pada fraksi 4 dan fraksi 11 pada eluen *n*-heksana : etil asetat (7:3) yang kemudian dilanjutkan uji aktivitas antioksidan dengan menggunakan *microplate reader*. Pada fraksi 4 ini juga memperlihatkan bentukan kristal pada dinding erlenmeyer.



**Gambar 2.** Kristal yang terbentuk spontan hasil kromatografi vakum cair fraksi 4 kulit batang Kangkang katup (*Bauhinia semibifida* Roxb).

Selanjutnya, F4 ini dilakukan proses rekristalisasi, prinsipnya rekristalisasi dilakukan berdasarkan perbedaan kelarutan antara zat yang akan dimurnikan dengan pengotor dalam suatu pelarut tunggal atau kombinasi dari beberapa pelarut yang cocok. Proses pemilihan pelarut untuk rekristalisasi ini dapat dilakukan berulang-ulang untuk mendapatkan pelarut yang sesuai, selanjutnya proses rekristalisasi dengan cara menambahkan sedikit mungkin pelarut yang melarutkannya dan menambahkan lebih banyak pelarut yang tidak melarutkannya untuk diperoleh senyawa murni. Tujuan penambahan pelarut yang tidak melarutkannya adalah agar pelarut jenuh sehingga mendesak kristal keluar kembali dari pelarut yang melarutkannya. Kemudian dilakukan pemisahan kembali dengan kolom kromatografi dengan sephadex LH-20 sehingga

didapatkan 1 senyawa yang diberi label senyawa BS yang menunjukkan satu noda yang baik tanpa adanya noda lain yang tampak pada kromatografi lapis tipis dengan menggunakan tiga eluen yang berbeda yaitu *n*-heksana : etil asetat (5:5) dengan nilai  $R_f$  0,44, etil asetat 100% dengan nilai  $R_f$  0,55, etil asetat : metanol (9:1) dengan nilai  $R_f$  0,75.



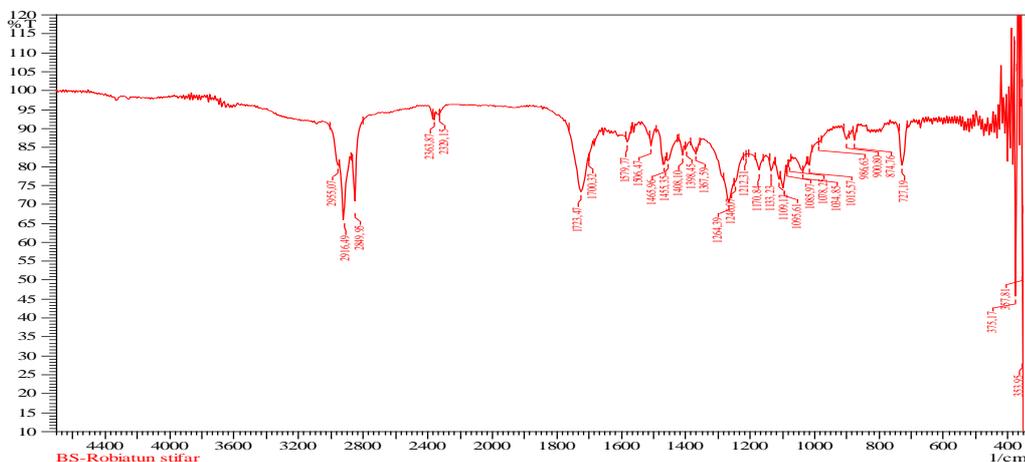
**Gambar 3.** Profil kromatografi lapis tipis senyawa BS kulit batang Kangkang katup dengan tiga eluen berbeda, pemantauan dibawah lampu UV 366 nm, fase diam : silika gel 60 GF<sub>254</sub>, Fase gerak : *n*-heksana : etil asetat (5:5) (a), etil asetat 100% (b), etil asetat : metanol (9:1) (c) ; Profil Kromatografi Lapis Tipis senyawa BS dengan penampak noda Liebermann burchad (d) dan dengan penempak noda asam sulfat 10% (e).

Pengukuran titik leleh senyawa BS menggunakan Stuart *Melting Point Apparatus* (SMP-11) diperoleh titik leleh masing-masing 163-165°C. Jarak titik leleh dari senyawa BS tidak lebih dari 2°C ini menunjukkan bahwa senyawa yang sudah didapat telah murni. Pemeriksaan organoleptis diketahui bahwa senyawa BS didapat berupa kristal, berwarna putih kekuningan, larut dalam metanol dan dalam pelarut etil asetat, tidak larut dalam pelarut *n*-heksana.

Spektrum UV digunakan untuk menganalisa keberadaan gugus kromofor dan gugus ausokrom. Identifikasi senyawa BS dengan spektrofotometer UV pada rentang panjang gelombang (200-400 nm) dalam pelarut metanol didapatkan senyawa BS memberikan serapan maksimum pada panjang gelombang 295,00 dengan absorbansi 0,489, panjang gelombang 300,00 dengan absorbansi 0,428, panjang gelombang 305,00 dengan absorbansi 0,362, panjang gelombang 310,00 dengan absorbansi 0,307. Berdasarkan hasil analisis dengan spektrofotometer UV-Vis tersebut dapat disimpulkan bahwa pada senyawa BS terdapat gugus kromofor yaitu C=O dan C=C terkonjugasi. Kesimpulan ini diperkuat oleh interpretasi data spektrum FT-IR dari senyawa BS.

Hasil analisis menggunakan spektroskopi FT-IR senyawa BS mempunyai pita serapan pada bilangan gelombang 2916,49  $\text{cm}^{-1}$  menunjukkan adanya CH alifatik, pita serapan pada bilangan gelombang 1723,47  $\text{cm}^{-1}$  menunjukkan vibrasi C=O. Pita serapan pada bilangan gelombang 1246,07  $\text{cm}^{-1}$  merupakan vibrasi C=C (Sastrohamidjojo, 2013).

Berdasarkan analisis spektroskopi dan uji fitokimia terhadap senyawa yang diperoleh, senyawa BS kemungkinan merupakan senyawa golongan terpenoid.



**Gambar 4.** Hasil Spektrum Spektrofotometer Inframerah Senyawa BS Kulit Batang Kangkang katup (*Bauhinia semibifida* Roxb).

**Tabel 1.** Data Bilangan Gelombang dan Kemungkinan Gugus Fungsi Senyawa BS kulit batang Kangkang katup.

No	Bilangan gelombang	Literatur (Sastrohamidjojo, 2013)*	Regangan
1	2916,49	3000-2850 cm <sup>-1</sup>	CH (alifatik)
2	1723,47	1750-1730 cm <sup>-1</sup>	C=O (Ester)
3	1579,77	1600-1475 cm <sup>-1</sup>	C=C

Pengujian aktivitas antioksidan terhadap senyawa BS menggunakan metode serapan DPPH (*1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl*) yang merupakan metode sederhana, muda dan menggunakan sampel dalam jumlah yang sedikit dengan waktu yang singkat (Hanani et al., 2005). Aktivitas antioksidan dinyatakan dalam persentase inhibisinya terhadap radikal DPPH. Besarnya aktivitas antioksidan ditandai dengan nilai IC<sub>50</sub> yaitu konsentrasi larutan dengan sampel yang dibutuhkan untuk menghambat 50% radikal bebas dibanding kontrol melalui persamaan linear. Semakin kecil nilai IC<sub>50</sub> berarti semakin kuat kemampuan sebagai antioksidannya (Zang et al., 2006)

Evaluasi aktivitas antioksidan dilakukan pada fraksi 4, fraksi 11 yang menunjukkan warna paling bagus saat uji pendahuluan dan senyawa dan senyawa BS, karena pada fraksi 4 terbentuknya kristal dan didapat kan senyawa murni yang dilabeli BS.

**Tabel 2.** Hasil Uji Aktivitas Antioksidan

Sampel	Kons (µg/mL)	Ln Kons	Pengulangan			Rata-rata ± SD	Abs. Sampel	% Inhibisi	IC <sub>50</sub> (µg/mL)
			1	2	3				
F4	1000	6,908	0,252	0,221	0,249	0,246 ± 0,017	0,195	24	>1000
	500	6,215	0,259	0,237	0,257	0,251 ± 0,012	0,200	22	
	250	5,521	0,265	0,245	0,26	0,257 ± 0,010	0,205	19	
	125	4,828	0,265	0,252	0,267	0,261 ± 0,008	0,210	18	

	62,5	4,143	0,273	0,259	0,271	0,268 ± 0,008	0,216	15	
	31,5	3,442	0,275	0,260	0,295	0,277 ± 0,018	0,225	12	
<b>F11</b>	1000	6,908	0,100	0,102	0,122	0,108 ± 0,012	0,057	76	<b>179</b>
	500	6,215	0,105	0,106	0,180	0,130 ± 0,043	0,079	67	
	250	5,521	0,108	0,109	0,200	0,139 ± 0,053	0,088	64	
	125	4,828	0,134	0,117	0,270	0,174 ± 0,084	0,122	49	
	62,5	4,143	0,150	0,160	0,350	0,220 ± 0,113	0,169	30	
	31,5	3,442	0,155	0,230	0,400	0,262 ± 0,126	0,210	13	
<b>Senyawa BS</b>	1000	6,908	0,470	0,467	0,455	0,464 ± 0,008	0,408	14	>1000
	500	6,215	0,527	0,522	0,514	0,521 ± 0,007	0,465	2	
	250	5,521	0,532	0,522	0,516	0,523 ± 0,008	0,468	2	
	125	4,828	0,537	0,526	0,517	0,527 ± 0,010	0,471	1	
	62,5	4,143	0,540	0,528	0,528	0,532 ± 0,007	0,477	0	
	31,5	3,442	0,569	0,548	0,538	0,552 ± 0,016	0,496	-4	
<b>Vitamin C</b>	100	4,605	0,05	0,051	0,054	0,052 ± 0,002	0,010	95,58	4
	50	3,912	0,07	0,067	0,07	0,069 ± 0,002	0,027	87,92	
	25	3,219	0,089	0,093	0,09	0,091 ± 0,002	0,049	78,35	
	12,5	2,526	0,12	0,123	0,109	0,117 ± 0,007	0,076	66,57	
	6,25	1,833	0,138	0,146	0,13	0,138 ± 0,008	0,096	57,44	
	3,125	1,139	0,172	0,165	0,154	0,164 ± 0,009	0,122	46,10	

Berdasarkan hasil pengujian aktivitas antioksidan, fraksi 11 mempunyai  $IC_{50}$  179  $\mu\text{g/mL}$  dengan kategori lemah (Zang *et al.*, 2006). Fraksi 4 hanya mempunyai % inhibisi sebesar 24% dan senyawa BS 14% (tidak mencapai 50%) menunjukkan bahwa senyawa BS dan fraksi 4 tidak mampu menghambat 50% radikal bebas DPPH. Sehingga nilai  $IC_{50}$  lebih dari 1000  $\mu\text{g/mL}$ . Evaluasi tersebut menunjukkan bahwa senyawa BS dari fraksi 4 tidak aktif sebagai antioksidan. Suatu bahan dapat dikatakan aktif sebagai antioksidan bila presentase aktivitas antioksidan lebih atau sama dengan 50% (Parwata, *et al.*, 2009). Seperti dari hasil penelitian yang menunjukkan vitamin c sangat kuat sebagai antioksidan dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar 4  $\mu\text{g/mL}$ . Selain itu, ketika melakukan uji aktifitas antioksidan dengan DPPH, pada fraksi 4 dan senyawa isolat BS tidak mengalami perubahan warna setelah diinkubasi. Tidak adanya perubahan warna dari ungu menjadi kuning menandakan bahwa senyawa BS tidak memiliki aktivitas antioksidan.

## PENUTUP

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa hasil isolasi kulit batang kangkang katup (*Bauhinia semibifida* Roxb) didapatkan suatu senyawa murni BS berupa kristal berwarna putih kekuningan dan berdasarkan uji kandungan fitokimia senyawa BS ini diduga merupakan golongan terpenoid.

Hasil dari pengujian aktivitas antioksidan berdasarkan nilai  $IC_{50}$  Fraksi 11 menunjukkan  $IC_{50}$  179  $\mu\text{g/mL}$  dengan kategori lemah, pada fraksi 4 dan senyawa BS tidak aktif sebagai antioksidan.

## DAFTAR PUSTAKA

Ayucitra, A., Indraswati, N., Francisco, G. & Yudha, A. (2013). Potensi Senyawa Fenolik Bahan Alam Sebagai Antioksidan Alami Minyak Goreng Nabati. *Widya Teknik*, 10(1): 1–10.

- Demirezer, L.Ö., Kuruüzüm-Uz, A., Bergere, I., Schiewe, H.-J. & Zeeck, A. (2001). The Structures of Antioxidant and Cytotoxic Agents from Natural Source: Anthraquinones and Tannins from Roots of *Rumex patientia*. *Phytochemistry*, 58(8): 1213–1217.
- Fadhli, H., Furi, M. & Jauwahir, A. (2019). Isolasi dan Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Alkaloid dari Ekstrak Metanol Kulit Batang Bunga Kupu-kupu (*Bauhinia semibifida* Roxb.). *Jurnal Penelitian Farmasi Indonesia*, 7(2): 43–50.
- Fadhli, H., Nurdin, A.N. & Octaviani, M. (2018a). Potensi Antioksidan dari Ekstrak Kulit Batang *Bauhinia semibifida* Roxb. *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina*, 4(1): 77–87.
- Fadhli, H., Soeharto, A.B.R. & Windarti, T. (2018b). Uji Aktivitas Antioksidan Kulit Buah Pulasan (*Nephelium mutabile* Blume) dan Bunga Turi Putih (*Sesbania grandiflora*) dengan Metoda DPPH. *Jurnal Katalisator*, 3(2): 114–124.
- Fitmawati, F., Sofiyanti, N., Roza, R.M., Isnaini, I., Irawan, Y.R., Winata, D.R. & Dewi, A.P.K. (2017). Antioxidant Activity of Dominant Plants Species in Obat Pahit from Lingga Malay Ethnic in Riau Archipelago. *Biosaintifika: Journal of Biology & Biology Education*, 9(2): 325–331.
- Hanani, E. (2016). Analisis Fitokimia. Jakarta : EGC: Buku Kedokteran EGC.
- Hostettmann, K., Hostettman, M. & Marston, A. (1995). Cara Kromatografi Preparatif Penggunaan pada Senyawa Bahan Alam. Bandung: Penerbit ITB.
- Kedare, S.B. & Singh, R.P. (2011). Genesis and Development of DPPH Method of Antioxidant Assay. *Journal of Food Science and Technology*, 48(4): 412–422.
- Lovadi, I. & Linda, R. (2015). Pemanfaatan Tumbuhan dalam Pengobatan Tradisional Masyarakat Suku Dayak Kanayatn di Desa Ambawang Kecamatan Kubu Kabupaten Kubu Raya. *Protobiont*, 4(3): 49–59.
- Parwata, I.M.O.A., Rita, W.S. & Yoga, R. (2009). Isolasi dan Uji Antiradikal Bebas Minyak Atsiri pada Daun Sirih (*Piper betle* Linn) Secara Spektroskopi Ultra Violet-Tampak. *Jurnal kimia*, 3(1): 7–13.
- Sastrohamidjojo, H. (2013). Dasar-dasar Spektroskopi. Yogyakarta: UGM Press.
- Tanjung, M. & Tjahjendarie, T.S. (2014). Flavonoids from the Stem Bark of *Bauhinia semibifida* L. *Der Pharmacia Lettre*, 6(6): 434–438.
- Tjitrosoepomo, G. (1994). Taksonomi Tumbuhan Obat-obatan. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.

- Zhang, L., Tu, Z., Yuan, T., Wang, H., Xie, X. & Fu, Z. (2016). Antioxidants and  $\alpha$ -Glucosidase Inhibitors from *Ipomoea batatas* Leaves Identified by Bioassay-Guided Approach and Structure-Activity Relationships. *Food Chemistry*, 208: 61–67.
- Zhang, Q., Zhang, J., Shen, J., Silva, A., Dennis, D.A. & Barrow, C.J. (2006). A Simple 96-Well Microplate Method for Estimation of Total Polyphenol Content in Seaweeds. *Journal of Applied Phycology*, 18(3–5): 445–450.