

KORELASI FLAVONOID TOTAL DENGAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK DAN FRAKSI DAUN PURING KURA (*Codiaeum variegatum* L.)

Hendy Suhendy, Dhea Sinta Nurjanah*, Ira Rahmiyani

Program Studi S1 Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Bakti Tunas Husada

*Email: dheashinta21@gmail.com

Received: 04/07/2024, Revised: 31/07/2024, Accepted: 02/08/2024, Published: 08/08/2024

ABSTRAK

Puring kura (*Codiaeum variegatum* L.) memiliki potensi sebagai antioksidan alami karena kandungan flavonoidnya yang dapat menetralkan radikal bebas dengan cara mendonorkan elektron kepada senyawa radikal bebas. Flavonoid berperan penting dalam aktivitas antioksidan, di mana semakin tinggi konsentrasi flavonoid, semakin besar aktivitas antioksidannya. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan korelasi nilai kesetaraan flavonoid total dengan aktivitas antioksidan ekstrak dan fraksi daun puring kura. Ekstrak dan fraksi daun puring kura dipantau menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT) dan dilakukan penetapan flavonoid total dan aktivitas antioksidan menggunakan spektrofotometer UV-Vis metode DPPH. Ekstrak etanol, etil asetat, dan n-heksan menunjukkan nilai kesetaraan flavonoid total berturut-turut sebesar 66,690; 96,512 dan 66,184 mg QE/g sampel, sedangkan nilai kesetaraan aktivitas antioksidan adalah 60,109; 33,938 dan 32,836 mg AAE/g sampel. Fraksi gabungan 4 menunjukkan nilai kesetaraan flavonoid paling tinggi sebesar 299,615 mg QE/g sampel, sedangkan nilai kesetaraan aktivitas antioksidan tertinggi dimiliki fraksi gabungan 6 yaitu sebesar 288,599 mg AAE/g sampel. Aktivitas antioksidan ekstrak dan fraksi daun puring kura tidak dipengaruhi oleh kandungan flavonoid total karena pada daun puring kura terdapat senyawa lain yang dapat memberikan aktivitas antioksidan seperti senyawa fenolik lain selain flavonoid atau senyawa-senyawa golongan terpenoid.

Kata kunci : Antioksidan, *Codiaeum variegatum*, flavonoid total, puring kura.

ABSTRACT

Croton (Codiaeum variegatum L.) has potential as a natural antioxidant due to its flavonoid content, which can neutralize free radicals by donating electrons to them. Flavonoids play an important role in antioxidant activity, where the higher the concentration of flavonoids, the greater the antioxidant activity. This research aims to determine the correlation equivalence values between total flavonoid and antioxidant activity of croton leaves extract and fractions, and their correlation. The extract and fractions of croton leaves were monitored using thin-layer chromatography (TLC) and the determination of total flavonoids and antioxidant activity was conducted using UV-Vis spectrophotometry using the DPPH method. Ethanol, ethyl acetate, and n-hexane extracts showed total flavonoid equivalence values of 66.690, 96.512, and 66.184 mg QE/g sample, while the equivalence values of antioxidant activity were 60.109, 33.938, and 32.836 mg AAE/g sample, respectively. Combined fraction 4 exhibited the highest total flavonoid equivalence value at 299.615 mg QE/g sample, whereas

combined fraction 6 had the highest antioxidant activity equivalence value at 288.599 mg AAE/g sample. The antioxidant activity of croton leaf extract and fractions was not influenced by the total flavonoid content. This is because the croton leaves contain other compounds that can contribute to antioxidant activity, such as other phenolic compounds in addition to flavonoids or terpenoid compounds.

Keywords: Antioxidant, *Codiaeum variegatum*, croton, flavonoid total.

PENDAHULUAN

Radikal bebas masih banyak dibahas di dunia kesehatan hingga saat ini, karena kebanyakan penyakit disebabkan oleh proses oksidasi berlebih di dalam tubuh. Proses oksidasi diakibatkan oleh radikal bebas yang bersifat reaktif karena memiliki elektron yang tidak berpasangan, yang menangkap elektron dari suatu molekul untuk mencapai kestabilan (Halliwell dan Gutteridge, 2015). Radikal bebas yang terus meningkat dapat menjadi penyebab terjadinya stres oksidatif dan menyebabkan timbulnya penyakit degeneratif seperti kardiovaskular, diabetes melitus, dan kanker (Sharifi-Rad dkk., 2020). Hal tersebut ditunjang dengan prevalensi penyakit degeneratif tahun 2018 yang mengalami peningkatan sebesar 65,7% jika dibandingkan dengan tahun 2013 (Kemenkes RI, 2018).

Untuk mengatasi bahaya radikal bebas, maka diperlukan senyawa antioksidan, yang merupakan senyawa yang dapat melindungi sel-sel dari kerusakan dengan menetralkan radikal bebas. Antioksidan dapat berupa antioksidan alami yang dapat melindungi

tubuh dari bahaya radikal bebas, sedangkan antioksidan sintetik berpotensi memberikan efek samping berbahaya karena sifat karsinogeniknya (Devitria, 2020). Oleh karena itu, antioksidan alami dipilih sebagai alternatif antioksidan yang lebih aman.

Salah satu tanaman yang berpotensi menjadi antioksidan alami adalah puring kura (Salim dkk., 2018). Saat ini, puring kura banyak ditanam dan dikenal sebagai tanaman hias.



Gambar 1. Tanaman puring kura

Secara empiris, puring kura dimanfaatkan sebagai obat demam, antijamur, antidiare, dan analgetik (Sawiji dan Sukmadiani, 2021). Penelitian yang dilakukan oleh Nuraini dkk. (2022), menyebutkan bahwa daun puring kura memiliki isolat yang diduga kuat sebagai golongan flavonoid. Selain itu, kandungan

flavonoid dalam ekstrak daun puring kura sangat tinggi yaitu antara 33,1% hingga 37,63% (Bijekar dan Gayatri, 2015; Nuraini dkk., 2022).

Flavonoid memiliki sifat sebagai antioksidan dengan mendonorkan elektron kepada senyawa radikal bebas sehingga efek toksiknya dapat dinetralisir (Rodríguez De Luna dkk., 2020). Flavonoid diketahui berperan penting terhadap aktivitas antioksidan, yang mana semakin tinggi konsentrasi flavonoid, maka semakin tinggi aktivitas antioksidannya (Nur dkk., 2019).

Salah satu jenis puring, yaitu puring merah (*Codiaeum variegatum* (L.) Rumph) terbukti memberikan aktivitas antioksidan. Pengujian metode DPPH menunjukkan bahwa ekstrak etanol pada daun puring merah memiliki aktivitas antioksidan sedang dengan IC_{50} sebesar 245,94 mg/L. Fraksi air dan etil asetat menunjukkan aktivitas antioksidan yang kuat dengan IC_{50} masing-masing sebesar 23,80 mg/L dan 16,46 mg/L (Salim dkk., 2018).

Daun puring kura merupakan tanaman yang masih satu genus dengan puring merah. Berdasarkan kesamaan tingkat taksonomi tersebut daun puring kura diduga memiliki potensi aktivitas antioksidan yang sama dengan daun puring merah. Oleh sebab itu, penelitian ini perlu

dilakukan untuk membuktikan aktivitas antioksidan daun puring kura serta korelasinya dengan flavonoid total.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu pengering simplisia, *rotary evaporator* (IKA RV-8), *herb grinder* (Getra), chamber, lampu UV (ultraviolet) (Camag), plat KLT GF₂₅₄ (Mercks), tabung eppendorf, spektrofotometer UV-Vis (Genesys Thermo Scientific), mikropipet, kuvet, dan alat-alat laboratorium lainnya.

Bahan yang digunakan pada penelitian ini antara lain serbuk simplisia daun puring kura, etanol 70% (PT Brataco), etil asetat (PT DPH), n-heksan (PT DPH), kloralhidrat 70% LP, asam klorida (HCl) 2N (Merck), besi (III) klorida (FeCl₃) 1% (Merck), gelatin 1%, natrium hidroksida (NaOH) (Merck), ammonia encer, amil alkohol, kloroform, serbuk Mg, etanol 96%, toluen, anisaldehyd-asam sulfat, Lieberman Burchard (asam asetat anhidrat dan asam sulfat pekat), Dragendorff (bismuth nitrat dan kalium iodida), Mayer (merkuri (II) klorida dan kalium iodida), eter, silika gel H60, kuersetin p.a. (Sigma Aldrich), aluminium klorida (AlCl₃) 10%, natrium

asetat, asam askorbat p.a., 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) (Sigma Aldrich), sitroborat, etanol p.a, metanol p.a.

Jalannya Penelitian

1. Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman dilakukan di Herbarium Jatinangor, Laboratorium Taksonomi Tumbuhan, Jurusan Biologi, FMIPA Universitas Padjajaran, No. 25/HB/11/2023.

2. Preparasi Sampel

Daun puring kura sebanyak 3 kg, di sortasi basah dan dicuci sampai bersih dengan air mengalir, ditiriskan, dan dikeringkan pada suhu 45°C. Dilakukan sortasi kering kemudian diblender dan diayak sehingga diperoleh serbuk simplisia yang lebih halus dan seragam.

3. Karakterisasi Simplisia

Pemeriksaan karakterisasi simplisia terdiri dari parameter yang bersifat khusus (spesifik) dan umum (non-spesifik). Parameter spesifik diantaranya makroskopik, mikroskopik, penetapan kadar sari larut air dan etanol serta skrining fitokimia. Sedangkan, parameter non-spesifik meliputi penetapan kadar air, kadar abu total, kadar abu tidak larut asam, kadar abu larut air, dan susut pengeringan.

4. Ekstraksi Simplisia Daun Puring Kura

Maserasi bertingkat digunakan untuk mengekstraksi senyawa dalam simplisia daun puring kura, menggunakan pelarut yang memiliki polaritas berbeda yaitu n-heksan, etil asetat, dan etanol 70%. Serbuk simplisia daun puring kura sebanyak 500 g direndam 5 liter n-heksan, didiamkan selama 3x24 jam dengan diaduk beberapa kali dan pelarut diganti setiap 24 jam. Selanjutnya, disaring dan residu dikeringkan kemudian dilakukan kembali ekstraksi menggunakan etil asetat dan etanol 70% menggunakan cara yang serupa. Setiap ekstrak cair yang diperoleh, dipisahkan kemudian diuapkan hingga ekstrak mengental kemudian dihitung rendemennya.

5. Pemantauan Ekstrak Daun Puring Kura dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Pemantauan masing-masing ekstrak daun puring kura dilakukan menggunakan fase gerak yang sesuai dan silika gel GF₂₅₄ sebagai fase diamnya. Hasil dipantau pada lampu UV 254 dan 366 nm. Setelah itu disemprot menggunakan penyemprot bercak H₂SO₄ 10% sebagai penampak bercak universal serta sitroborat dan DPPH 0,2% sebagai penampak bercak spesifik.

6. Penetapan Flavonoid Total Ekstrak Daun Puring Kura yang Setara dengan Kuersetin

Larutan pembanding kuersetin dibuat deret konsentrasi (40-130 μL). Pengujian dilakukan dengan cara 100 μL kuersetin ditambahkan dengan 300 μL metanol, AlCl_3 10% dan natrium asetat 1 M masing-masing sebanyak 20 μL , dan 560 μL aquadest. Selanjutnya dilakukan pengujian terhadap larutan ekstrak dengan prosedur yang sama. Blanko yang digunakan yaitu 400 μL metanol, 20 μL AlCl_3 10% dan 20 μL natrium asetat 1 M, serta 560 μL aquadest. Dilakukan inkubasi campuran dengan waktu 30 menit. Setelah itu, diukur absorbansinya pada panjang gelombang 415 nm. Pengulangan pengukuran dilakukan 6 kali pada tiap ekstrak. Absorbansi setiap konsentrasi larutan pembanding digunakan untuk pembuatan kurva kalibrasi kuersetin dan digunakan untuk menghitung total kadar flavonoid sampel sebagai nilai kesetaraan (ekuivalen) dalam g kuersetin per 100 g ekstrak (g QE/100 g) (Chang dkk., 2002).

7. Penetapan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Puring Kura

Larutan stok DPPH dibuat dengan konsentrasi 50 $\mu\text{g/mL}$. Asam askorbat dibuat larutan stok dengan konsentrasi 200 $\mu\text{g/mL}$. Sedangkan konsentrasi larutan

ekstrak dibuat 10.000 $\mu\text{g/mL}$. Dibuat 6 variasi konsentrasi dari larutan stok asam askorbat, diambil 10-35 μL (dilakukan triplo), dimasukkan ke tabung eppendorf, lalu ditambahkan metanol p.a. sebanyak 125 μL dan 750 μL larutan DPPH. Diinkubasi 30 menit di ruangan yang tertutup dan gelap. Selanjutnya diukur absorbansinya pada panjang gelombang 517 nm sehingga diperoleh persen peredaman masing-masing konsentrasi, lalu dibuat kurva kalibrasi. Untuk pengujian sampel, diambil 12,5 μL larutan ekstrak, ditambahkan metanol p.a. hingga 125 μL dan 750 μL larutan DPPH (disiapkan 6x). Absorbansi diukur untuk menentukan persentase peredaman sampel yang selanjutnya dimasukkan ke persamaan regresi asam askorbat untuk menghitung aktivitas antioksidan yang dinyatakan sebagai kesetaraan asam askorbat, yaitu *mg ascorbic acid equivalent* (AAE/g sampel) (Celep dkk., 2015).

8. Fraksinasi Ekstrak Terpilih

Metode Kromatografi Cair Vakum (KCV) digunakan untuk proses fraksinasi. Silika gel H60 dituang ke dalam kolom lalu ditambahkan fase gerak dengan polaritas rendah dibantu perataan bagian atas adsorben, nyalakan vakum sampai semua fase gerak turun. Campuran sampel dan adsorben (1:1) dimasukkan, kemudian

vakum dinyalakan. Lalu dimasukkan kertas saring yang sesuai diameter kolom. Fase gerak menggunakan sistem elusi gradien dengan kombinasi kloroform-metanol dan metanol-air dengan perbandingan mulai dari 10:0 sampai 1:9 untuk masing-masing kombinasi pelarut, setiap pengeluasaan kolom di vakum. Fraksi-fraksi yang dihasilkan dipantau dengan KLT, dengan fase gerak kloroform-metanol-air (8:2,5:0,5) dan disemprot menggunakan penampak bercak universal. Fraksi-fraksi yang mempunyai kesamaan profil KLT kemudian digabungkan.

9. Penetapan Flavonoid Total dan Aktivitas Antioksidan Fraksi Daun Puring Kura

Dilakukan dengan mengikuti prosedur yang sama dengan yang dilakukan pada ekstrak daun puring kura.

Analisis Data

Analisis data dilakukan menggunakan SPSS versi 29 menggunakan *One Way ANOVA* dan diikuti oleh *post-hoc Tukey*. Korelasi flavonoid total dengan aktivitas antioksidan ditentukan menggunakan korelasi *Pearson*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Determinasi Tanaman

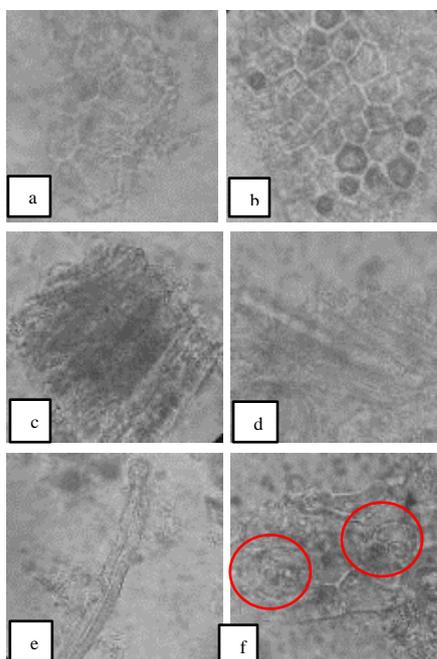
Tanaman puring kura dideterminasi agar keaslian identitas sampel tanaman yang akan diteliti dapat teridentifikasi. Berdasarkan surat determinasi No. 25/HB/11/2023, dinyatakan bahwa puring kura, dengan nama latin *Codiaeum variegatum* (L.) Blume dipastikan sebagai tanaman yang digunakan sebagai sampel penelitian.

2. Preparasi Sampel

Sortasi basah dilakukan untuk memisahkan bagian yang tidak diinginkan seperti daun busuk, berlubang, dan ditumbuhi jamur. Pencucian dilakukan untuk menghilangkan pengotor yang menempel sehingga diperoleh simplisia yang bersih. Selanjutnya dikeringkan agar kadar airnya dapat berkurang sehingga mencegah pertumbuhan mikroorganisme dan simplisia tidak mengalami kerusakan dengan cepat. Lalu dilakukan sortasi kering untuk memisahkan bagian yang tidak diinginkan. Kemudian diblender untuk mendapatkan serbuk simplisia dan dilakukan pengayakan agar diperoleh serbuk simplisia yang seragam. Serbuk simplisia yang diperoleh sebanyak 595 gram dengan rendemen 19,833%.

3. Karakterisasi Simplisia

3.1 Parameter Spesifik



Gambar 2. Pengamatan mikroskopik simplisia daun puring kura a. Epidermis atas b. Epidermis bawah c. Berkas pembuluh d. Pembuluh kayu dengan penebalan tangga e. Serabut sklerenkim f. Stomata parasitik

Pemeriksaan makroskopik dilakukan secara organoleptik meliputi pengamatan bentuk, aroma, warna, dan rasa. Simplisia

segar berbentuk bulat telur bergelombang, permukaannya licin dan mengkilap, beraroma khas, berwarna kombinasi merah, kuning, hijau, dan coklat serta rasanya pahit. Sedangkan serbuk simplisia berbentuk serbuk halus, memiliki aroma khas, berwarna hijau, dan berasa pahit. Selanjutnya dilakukan pemeriksaan mikroskopik agar fragmen-fragmen pengenal yang ada dalam daun puring kura dapat teridentifikasi. Berdasarkan hasil pemeriksaan mikroskopik, secara umum hasilnya sesuai dengan fragmen pengenal seperti yang tertera pada penelitian (Nuraini dkk., 2022). Tertera pada Gambar 2 hasil pengamatan mikroskopik.

Tabel 1. Hasil skrining fitokimia simplisia dan ekstrak daun puring kura

Golongan Senyawa	Sampel			
	Simplisia	Ekstrak n-Heksan	Ekstrak Etil Asetat	Ekstrak Etanol 70%
Alkaloid	+	+	-	-
Flavonoid	+	-	+	+
Saponin	+	-	-	+
Tanin	-	-	-	-
Polifenol	+	-	+	+
Kuinon	+	-	+	+
Steroid	-	+	+	-
Triterpenoid	+	-	-	-
Monoterpenoid dan Seskuiterpenoid	+	+	+	-

Keterangan : (+) = Terdeteksi (-) = Tidak terdeteksi

Kadar sari larut air dan etanol memberikan informasi mengenai banyaknya komponen yang mampu tertarik oleh pelarut yang digunakan. Kadar sari larut air memberikan perkiraan tentang kandungan senyawa yang mampu terekstraksi oleh pelarut polar seperti air, sedangkan kadar sari larut etanol memberikan perkiraan tentang senyawa yang dapat larut dalam pelarut dengan kepolaran yang lebih rendah dibandingkan air. Kadar sari larut air simplisia daun puring kura adalah sebanyak 27,633%, sedangkan kadar sari larut etanol sebanyak 22,267%. Selanjutnya, dilakukan skrining fitokimia untuk memperoleh informasi mengenai jenis senyawa yang ada di dalam simplisia dan masing-masing ekstrak daun puring kura. Hasil yang diperoleh tidak terlalu berbeda dengan yang dilakukan oleh Nuraini dkk., (2022). Terlampir pada Tabel 1 data skrining fitokimia simplisia dan ekstrak daun puring kura.

3.2 Parameter Non Spesifik

Pemeriksaan parameter non spesifik untuk kadar air memiliki persyaratan umum kadar air simplisia yaitu tidak lebih dari 10%, maka kadar air simplisia daun puring kura memenuhi syarat yang ditetapkan (FHI, 2017). Hasil pemeriksaan parameter non spesifik simplisia daun puring kura tertera pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil pemeriksaan parameter non spesifik simplisia daun puring kura

Penetapan	Rataan Hasil \pm SD
Kadar Air	4,667% \pm 1,154
Kadar Abu Total	9,417% \pm 0,202
Kadar Abu Tidak Larut Asam	1,233% \pm 0,284
Kadar Abu Larut Air	7,433% \pm 0,722
Susut Pengerinan	6,870% \pm 0,052

4. Ekstraksi Simplisia Daun Puring Kura

Penggunaan metode maserasi bertingkat dapat menghasilkan ekstrak dengan kandungan senyawa yang berbeda polaritasnya secara bertahap sehingga dapat memberikan rendemen ekstrak yang maksimal. Ekstrak etanol memiliki % rendemen paling tinggi, artinya pada daun puring kura banyak mengandung senyawa polar. Etanol merupakan pelarut universal yang dapat mengekstraksi berbagai senyawa sehingga menghasilkan rendemen yang paling tinggi (Warnis dan Artika, 2021). Rendemen ekstrak terlihat pada Tabel 3 di bawah ini.

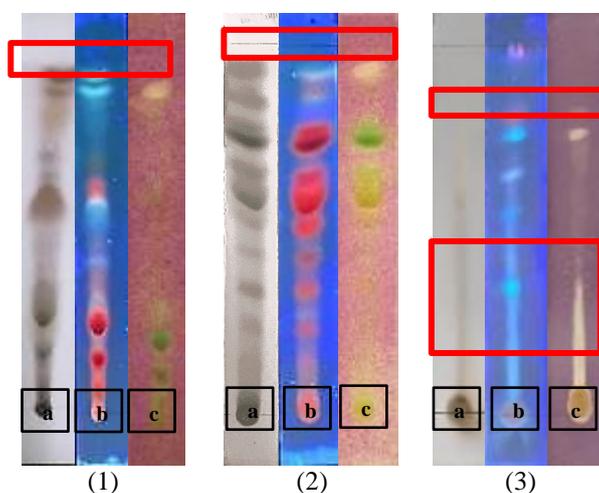
Tabel 3. Rendemen ekstrak daun puring kura

Ekstrak	Rendemen Ekstrak (%)
n-Heksan	3,30%
Etil Asetat	3,99%
Etanol 70%	22,33%

Dalam etanol 70%, mengandung 30% air yang dapat mendukung proses ekstraksi dengan memungkinkan larutnya sebagian senyawa ke dalam etanol dan sebagian senyawa lain larut dalam air. Semakin tinggi konsentrasi etanol, kepolaran pelarutnya cenderung lebih rendah (Bawekes dkk., 2023).

5. Pemantauan Ekstrak Menggunakan KLT

Pemantauan ekstrak menggunakan KLT dilakukan untuk mengidentifikasi pola kromatogram dan menentukan keberadaan senyawa flavonoid dan senyawa yang dapat memberikan aktivitas antioksidan dalam ekstrak daun puring kura. Profil kromatogram setiap ekstrak dapat dilihat pada Gambar 3..



Gambar 3. Pemantauan ekstrak (1) n-heksan, eluen: n-heksan-etil asetat (8,5:1,5), (2) etil asetat, eluen: n-heksan-etil asetat (7:3), (3) etanol 70%, eluen: kloroform-metanol-air (8:2,5:0,5), (a) disemprot dengan H_2SO_4 10%, (b) disemprot dengan sitroborat dan diamati pada sinar UV 366 nm, (c) disemprot menggunakan DPPH 0,2%.

□ : bercak yang menandakan adanya korelasi antara senyawa flavonoid dan senyawa yang memberikan aktivitas antioksidan.

Pola kromatogram dari masing-masing ekstrak menunjukkan beberapa bercak dengan nilai Rf yang beragam dan dari ketiga ekstrak tersebut diperoleh bercak biru terang setelah disemprot sitroborat, yang diduga sebagai senyawa flavonoid dan ketika disemprot DPPH 0,2% muncul bercak kuning berlatar belakang ungu yang diduga sebagai senyawa yang memberikan aktivitas

antioksidan. Ekstrak n-heksan dengan fase gerak n-heksan-etil asetat (8,5:1,5) menunjukkan bercak yang diduga sebagai flavonoid dan memberikan aktivitas antioksidan pada nilai Rf 0,892, ekstrak etil asetat dengan fase gerak n-heksan-etil asetat (7:3) pada nilai Rf 0,923, dan ekstrak etanol 70% dengan fase gerak kloroform-metanol-air (8:2,5:0,5) ada pada nilai Rf 0,861.

6. Hasil Penetapan Flavonoid Total Ekstrak Daun Puring Kura yang Setara dengan Kuersetin

Penetapan kandungan flavonoid total dalam ekstrak daun puring kura ditentukan menggunakan metode spektrofotometri sinar tampak dengan pereaksi aluminium klorida ($AlCl_3$). Kadar yang diperoleh dipresentasikan sebagai % b/b ekivalen kuersetin (QE).

Penambahan pereaksi $AlCl_3$ agar terbentuk kompleks yang mengakibatkan panjang gelombang bergeser ke arah batokromik. Selain $AlCl_3$, natrium asetat ditambahkan agar panjang gelombang tetap ada pada daerah *visible* (Anwar dan Triyasmono, 2016). Reaksi $AlCl_3$ dengan senyawa flavon/flavonol pada C4 yang dimiliki gugus keto dan pada C3 atau C5 gugus hidroksil, membentuk senyawa kompleks yang stabil (Anwar dan Triyasmono, 2016 ; Suhendy dkk., 2022).

Tabel 4. Nilai kesetaraan flavonoid total ekstrak daun puring kura dengan kuersetin

Sampel	Rataan Nilai Kesetaraan Flavonoid (mg QE/g sampel) \pm SD
Ekstrak Etanol	66,690 \pm 1,414 ^a
Ekstrak Etil Asetat	96,512 \pm 3,603 ^b
Ekstrak n-Heksan	66,184 \pm 3,376 ^a

Keterangan: a-b = huruf yang berbeda dalam satu kolom menandakan terdapat perbedaan bermakna dengan Sig. ($p < 0,05$).

Perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) ditunjukkan oleh ekstrak etil asetat yang memiliki nilai kesetaraan flavonoid total tertinggi dibanding ekstrak lainnya. Sementara itu antara ekstrak etanol dan ekstrak n-heksan, tidak terdapat perbedaan yang signifikan ditunjukkan dengan nilai signifikansi ($p > 0,05$).

Tingginya flavonoid total ekstrak etil asetat diakibatkan karena etil asetat termasuk pelarut semi polar sehingga pelarut ini memiliki kecenderungan untuk mengekstrak senyawa flavonoid yang memiliki polaritas sedang, sehingga senyawa polar sampai nonpolar dapat larut dengan baik. Dalam pelarut etil asetat, senyawa flavonoid seperti flavon dan flavanon yang cenderung bersifat semi polar dapat larut dengan baik (Puspa Yani dkk., 2023). Sementara itu, ekstrak n-heksan memiliki nilai kesetaraan flavonoid total paling rendah, yang menunjukkan bahwa dalam pelarut nonpolar, senyawa flavonoid yang mampu terlarut jumlahnya sedikit.

7. Hasil Penetapan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Puring Kura

Penetapan aktivitas antioksidan dilakukan menggunakan metode peredaman radikal DPPH. Pemilihan metode ini berdasarkan pengerjaannya relatif mudah dilakukan, prosesnya sederhana, memberikan hasil cepat,

sensitif dalam mendeteksi aktivitas antioksidan, dan memerlukan sedikit sampel untuk pengujian. Hasil penetapan aktivitas antioksidan ekstrak daun puring kura terlampir pada Tabel 5.

Tabel 5. Nilai kesetaraan aktivitas antioksidan ekstrak daun puring kura dengan asam askorbat

Sampel	Rataan Nilai Kesetaraan Aktivitas Antioksidan (mg AAE/g sampel) ± SD
Ekstrak Etanol	60,109 ± 2,890 ^a
Ekstrak Etil asetat	33,938 ± 1,297 ^b
Ekstrak n-Heksan	32,826 ± 1,129 ^b

Nilai kesetaraan aktivitas antioksidan yang paling tinggi terhadap asam askorbat ditunjukkan oleh ekstrak etanol, yang memiliki perbedaan signifikan ($p < 0,05$) dengan ekstrak lainnya, sedangkan ekstrak etil asetat tidak memiliki perbedaan secara signifikan dengan ekstrak n-heksan ($p > 0,05$).

Aktivitas antioksidan yang paling tinggi dimiliki oleh ekstrak etanol meskipun jika dibandingkan ekstrak etil asetat, kandungan flavonoid totalnya lebih rendah, Hal tersebut bisa disebabkan karena etanol termasuk ke dalam pelarut polar yang dapat mengekstrak senyawa polar selain flavonoid seperti seperti fenolik dan senyawa-senyawa golongan terpenoid (Heim, Tagliaferro dan Bobilya, 2002). Senyawa-senyawa tersebut memiliki sifat antioksidan yang kuat dan

berkontribusi pada aktivitas antioksidan. Selain itu kadar flavonoid yang tinggi belum tentu memberikan aktivitas yang tinggi juga.

Ekstrak etanol dapat mengandung senyawa flavonoid yang bersifat polar dan lebih spesifik. Flavonoid polar memiliki banyak gugus -OH (hidroksil) yang memiliki peran terhadap penghambatan radikal bebas. Mekanisme utama penghambatan radikal bebas oleh senyawa antioksidan adalah ketika senyawa radikal bebas menerima (akseptor) atom hidrogen atau elektron dari gugus yang dapat menyumbangkan hidrogen sehingga terbentuk senyawa yang lebih stabil (Hassanpour dan Doroudi, 2023). Berdasarkan hal tersebut, dapat dikatakan bahwa semakin polar senyawa flavonoidnya, maka semakin besar aktivitas antioksidannya. Dengan kata lain, semakin banyak hidrogen yang didonorkan oleh gugus hidroksil, maka kemampuan reduksi terhadap DPPH juga semakin tinggi (Sayuti dan Yenrina, 2015).

Adapun senyawa flavonoid yang spesifik, tergantung pada struktur senyawanya. Flavonoid-flavonoid yang memiliki gugus -OH di atom karbon 3', 4', 3, gugus keto di C4, dan ikatan rangkap C2=C3 memberikan aktivitas antioksidan yang tinggi (Heim, Tagliaferro dan Bobilya, 2002). Berdasarkan aktivitas antioksidan dan nilai rendemen, maka

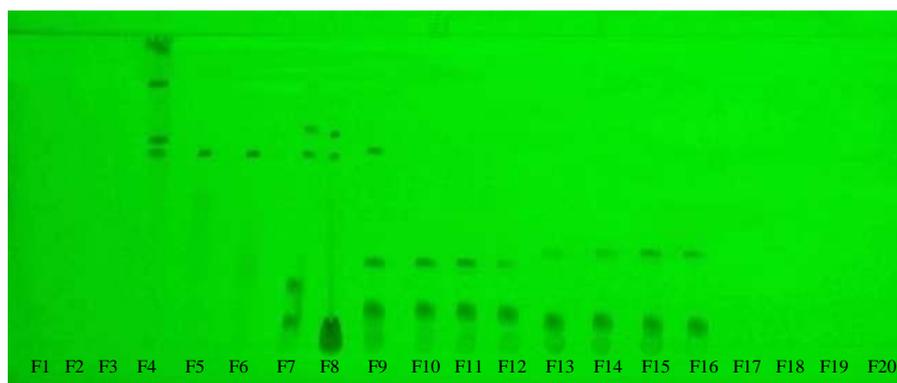
ekstrak etanol dilanjutkan ke tahap fraksinasi.

8. Fraksinasi Ekstrak Etanol 70% Menggunakan KCV

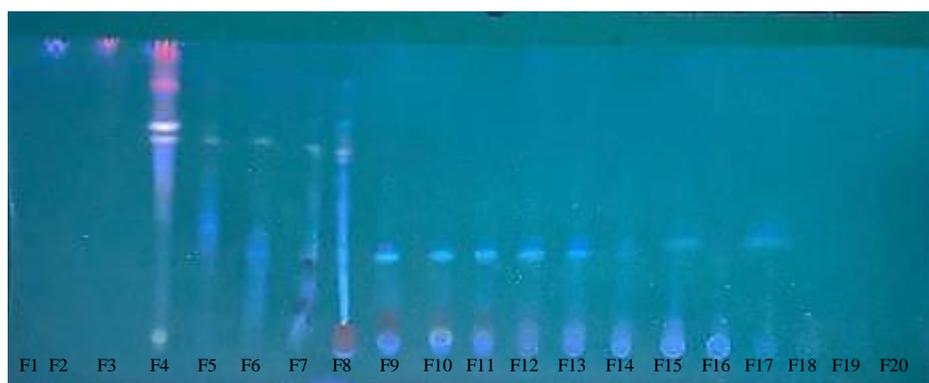
Proses fraksinasi menggunakan metode KCV dilakukan pada ekstrak terpilih yaitu ekstrak etanol daun puring kura. Tujuan dari proses fraksinasi ini adalah agar senyawa-senyawa dalam ekstrak terpisah berdasarkan tingkat polaritasnya. Pemilihan metode fraksinasi KCV disebabkan karena kemampuannya memisahkan sampel dalam jumlah besar dengan waktu singkat. Silika gel H60 digunakan sebagai fase diam pada KCV, sementara fase geraknya berupa secara gradien menggunakan dua kombinasi pelarut, di mana proses diawali dengan penggunaan pelarut polaritas rendah (nonpolar), diikuti dengan beberapa kombinasi pelarut yang semakin meningkat polaritasnya. Kombinasi pelarut pertama, kloroform-metanol untuk fraksi 1-10 dan yang kedua kombinasi metanol-air untuk fraksi 11-20, dengan perbandingan secara bertahap mulai dari 10:0 sampai 1:9 untuk masing-masing kombinasi pelarut. Pemilihan metode elusi gradien didasarkan pada pemisahannya yang lebih baik dibandingkan dengan metode isokratik. Isokratik hanya menggunakan satu pelarut sebagai pengelusnya sedangkan metode gradien

pengelusnya berbeda kepolarannya (Nuraini dkk., 2022).

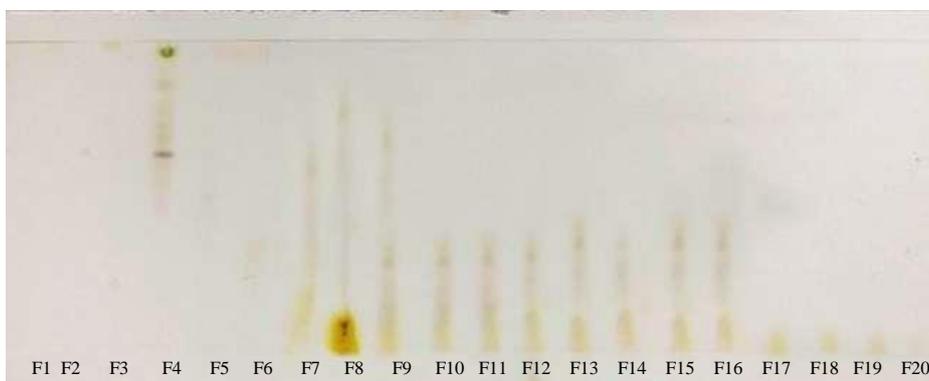
Dari hasil fraksinasi menggunakan KCV, diperoleh 20 fraksi yang memiliki variasi warna yang beragam. Sebelum dilakukan pemantauan fraksi menggunakan KLT, fraksi diupkan terlebih dahulu hingga diperoleh fraksi kental. Setelah fraksi-fraksi mengental, selanjutnya setiap fraksi dipantau dengan tujuan agar senyawa-senyawa yang terpisah selama proses pemisahan dapat terpantau dan teridentifikasi. Hasil pemantauan dari setiap fraksi dapat dilihat pada Gambar 4.



(a)



(b)



(c)

Gambar 4. Pemantauan fraksi, fase gerak kloroform-metanol-air (8:2,5:0,5) (a) dipantau pada UV 254 nm, (b) UV 366 nm (c) disemprot dengan penampak bercak H₂SO₄ 10%.

Hasil dari KLT fraksi, terlihat bahwa setiap fraksi memiliki pola kromatogram yang bervariasi. Fraksi-fraksi dengan pola kromatogram serupa digabungkan dan dari penggabungan fraksi tersebut diperoleh 8 fraksi gabungan di antaranya fraksi gabungan pertama (fraksi 2 dan 3), fraksi gabungan kedua (fraksi 4), fraksi gabungan ketiga (fraksi 5 dan 6), fraksi gabungan keempat (fraksi 7), fraksi gabungan kelima (fraksi 8), fraksi gabungan keenam (fraksi 9), fraksi gabungan ketujuh (fraksi 10-13),

dan fraksi gabungan kedelapan (fraksi 14-17).

9. Hasil Penetapan Flavonoid Total dan Aktivitas Antioksidan Fraksi Daun Puring Kura

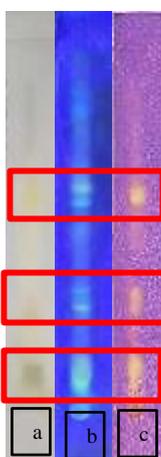
Flavonoid total dan aktivitas antioksidan setiap fraksi gabungan daun puring kura ditetapkan dengan menggunakan prosedur yang sama seperti pada ekstrak. Hasil dari penetapan dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Hasil penetapan flavonoid total dan aktivitas antioksidan fraksi gabungan daun puring kura

Sampel	Rataan Nilai Kesetaraan Flavonoid (mg QE/g sampel) ± SD	Rataan Nilai Kesetaraan Aktivitas Antioksidan (mg AAE/g sampel) ± SD
FG 1	86,795 ± 6,483 ^a	216,166 ± 3,491 ^a
FG 2	25,897 ± 2,248 ^b	194,583 ± 5,066 ^b
FG 3	150,897 ± 3,312 ^c	185,590 ± 4,823 ^b
FG 4	299,615 ± 6,521 ^d	197,690 ± 3,024 ^b
FG 5	92,243 ± 3,580 ^a	238,403 ± 3,825 ^c
FG 6	213,397 ± 3,580 ^e	288,599 ± 6,217 ^d
FG 7	175,897 ± 5,359 ^f	174,962 ± 4,950 ^e
FG 8	10,192 ± 1,720 ^g	189,351 ± 3,039 ^b

Keterangan : a-g = terdapat perbedaan yang signifikan (p<0,05) antar kelompok pada satu kolom.

 = nilai kesetaraan paling tinggi.



Gambar 5. Pemantauan fraksi gabungan terpilih, fase gerak kloroform-metanol-air (7,5:3:0,5) (a) disemprot dengan H₂SO₄ 10%, (b) disemprot sitroborat, (c) disemprot DPPH 0,2 satuan.

Perbedaan yang signifikan ditunjukkan oleh fraksi gabungan 4 dengan fraksi gabungan lainnya dengan nilai signifikansi ($p < 0,05$). Fraksi gabungan 6 dengan aktivitas antioksidan paling juga berbeda signifikan ($p < 0,05$) dengan fraksi lainnya.

Berdasarkan pertimbangan bahwa fraksi gabungan 6 memiliki aktivitas antioksidan yang paling tinggi dan rendemen yang paling besar dibandingkan fraksi gabungan 4, maka fraksi tersebut dipilih untuk dilakukan KLT kembali sebagai pengujian kualitatif untuk melihat keberadaan senyawa flavonoid dan senyawa yang memberikan aktivitas antioksidan. Hasil KLT terlampir pada Gambar 5.

10. Analisis Korelasi Flavonoid Total dengan Aktivitas Antioksidan Ekstrak dan Fraksi Daun Puring Kura

Analisis korelasi flavonoid total dan aktivitas antioksidan dilakukan terhadap ekstrak dan fraksi daun puring kura. Hasil analisis korelasi dapat dilihat pada Tabel 7.

Tabel 7. Hasil korelasi flavonoid total dan aktivitas antioksidan ekstrak dan fraksi daun puring kura

Parameter Antioksidan	Koefisien Korelasi (r)
IC DPPH Ekstrak	-0,229
IC DPPH Fraksi	0,200

Analisis korelasi flavonoid total dan aktivitas antioksidan ekstrak daun puring

kura dilakukan menggunakan uji korelasi *Spearman* dan hasilnya menunjukkan bahwa flavonoid total dengan aktivitas antioksidan tidak berhubungan secara signifikan ($p > 0,05$) karena koefisien korelasi bernilai negatif. Berbeda dengan ekstrak, analisis korelasi flavonoid total terhadap aktivitas antioksidan fraksi daun puring kura menggunakan korelasi *Pearson* karena data terdistribusi normal ($p < 0,05$). Hasil analisis memiliki nilai korelasi positif yang berarti flavonoid total memiliki hubungan positif dengan aktivitas antioksidan fraksi tetapi tidak signifikan. Tidak adanya korelasi pada ekstrak dan fraksi bisa disebabkan karena bukan hanya flavonoid yang dapat memberikan aktivitas antioksidan, tetapi ada juga senyawa lain yang lebih kuat atau efektif daripada flavonoid (Salim dkk., 2018).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa ekstrak etil asetat menunjukkan flavonoid total paling tinggi, sedangkan aktivitas antioksidan tertinggi ditunjukkan oleh ekstrak etanol karena pada ekstrak ini terdapat senyawa yang dapat memberikan aktivitas antioksidan selain flavonoid seperti fenolik dan senyawa-senyawa golongan terpenoid. Fraksi gabungan 4 memiliki nilai kesetaraan flavonoid yang paling tinggi. Namun, nilai

kesetaraan aktivitas antioksidan tertinggi ada pada fraksi gabungan 6.

Aktivitas antioksidan ekstrak dan fraksi daun puring kura tidak dipengaruhi oleh kandungan flavonoid total sehingga penelitian lebih lanjut terkait dengan total senyawa metabolit sekunder selain flavonoid yang memberikan aktivitas antioksidan disarankan, dan perlu juga dilakukan penelitian terkait profil keamanan meliputi uji toksisitas dan efek samping dari ekstrak dan fraksi daun puring kura.

DAFTAR PUSTAKA

- Anwar, K. and Triyasmono, L. (2016) Kandungan Total Fenolik, Total Flavonoid, dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.), Jurnal Pharmascience, 3(1), pp. 83–92. <https://jps.ppjpu.unlam.ac.id/>
- Bawekes, S. M., Yudistira, A., & Rumondor, E. M. (2023). Uji Kualitatif Kandungan Senyawa Kimia Perasan Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia* Swingle). Pharmacon, 12(3), 373–377. <https://doi.org/10.35799/pha.12.2023.49269>
- Bijekar, S., & Gayatri, M. (2015). Phytochemical profile of *Codiaeum variegatum* (L.) Bl. International Journal of Pharmacology and Pharmaceutical Sciences, 2(3), 22–31. <http://ijppsjournal.org>
- Celep, E., Charehsaz, M., Akyüz, S., Acar, E. T., & Yesilada, E. (2015). Effect of in vitro gastrointestinal digestion on the bioavailability of phenolic components and the antioxidant potentials of some Turkish fruit wines. Food Research International, 78, 209–215. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.10.009>
- Chang, C. C., Yang, M. H., Wen, H. M., & Chern, J. C. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. Journal of Food and Drug Analysis, 10(3), 178–182. <https://doi.org/10.38212/2224-6614.2748>
- Departemen Kesehatan RI., Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan., & Direktorat Pengawasan Obat Tradisional. (2000). Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat. Edisi IV.
- Devitria, R. (2020). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Daun Ciplukan menggunakan Metode 2,2-Diphenyl 1-Picrylhydrazyl (DPPH). Jurnal Penelitian Farmasi Indonesia, 9(1), 31–36. <https://doi.org/10.51887/jpfi.v9i1.800>

- Halliwell, B. and Gutteridge, J.M.C. (2015) *Free Radicals in Biology and Medicine* (5th edn). Oxford University Press. Available at: <https://doi.org/https://doi.org/10.1093/acprof:oso/9780198717478.001.0001>.
- Hassanpour, S. H., & Doroudi, A. (2023). Review of The Antioxidant Potential of Flavonoids as A Subgroup of Polyphenols and Partial Substitute for Synthetic Antioxidants. *Avicenna Journal of Phytomedicine*, 13(4), 354–376. <https://doi.org/10.22038/AJP.2023.21774>
- Heim, K.E., Tagliaferro, A.R. and Bobilya, D.J. (2002) ‘Flavonoid antioxidants: Chemistry, metabolism and structure-activity relationships’, *Journal of Nutritional Biochemistry*, 13(10), pp. 572–584. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0955-2863\(02\)00208-5](https://doi.org/10.1016/S0955-2863(02)00208-5).
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. (2018). Laporan Nasional Riskesdas 2018. Jakarta: Balitbang Kemenkes RI, hal 156.
- Kementerian Republik Indonesia. (2017). *Farmakope Herbal Indonesia Edisi II*. Jakarta: Direktorat Jenderal Kefarmasian Dan Alat Kesehatan.
- Nur, S., Sami, F. J., Awaluddin, A., & Afsari, M. I. A. (2019). Korelasi Antara Kadar Total Flavonoid dan Fenolik dari Ekstrak dan Fraksi Daun Jati Putih (*Gmelina Arborea* Roxb.) Terhadap Aktivitas Antioksidan. *Jurnal Farmasi Galenika (Galenika Journal of Pharmacy) (e-Journal)*, 5(1), 33–42. <https://doi.org/10.22487/j24428744.2019.v5.i1.12034>
- Nuraini, M., Zustika, D. S., & Lestari, T. (2022). Karakterisasi Simplisia dan Identifikasi Senyawa Flavonoid Ekstrak Daun Puring Kura (*Codiaeum variegatum* L). *Prosiding Seminar Nasional Desiminasi*, 2, 232–243. <https://ejurnal.universitas-bth.ac.id>
- Puspa Yani, N. K. L., Nastiti, K., & Noval, N. (2023). Pengaruh Perbedaan Jenis Pelarut Terhadap Kadar Flavonoid Total Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata* L.). *Jurnal Surya Medika*, 9(1), 34–44. <https://doi.org/10.33084/jsm.v9i1.5131>
- Rodríguez De Luna, S. L., Ramírez-Garza, R. E., & Serna Saldívar, S. O. (2020). Environmentally Friendly Methods for Flavonoid Extraction from Plant Material: Impact of Their Operating Conditions on Yield and Antioxidant Properties. *Scientific World Journal*, 2020.

- <https://doi.org/10.1155/2020/6792069>
- Salim, E., Hasnirwan, & Sartika, S. (2018). Uji Aktivitas Antioksidan, Toksisitas dan Kandungan Fenolik Total dari Daun Puring Merah (*Codiaeum variegatum* (L.) Rumph). *Jurnal Kimia Universitas Andalas*, 7(2), 1–8. www.kimia.fmipa.unand.ac.id
- Sawiji, R. T., & Sukmadiani, N. W. A. (2021). Formulasi Sediaan Salep Ekstrak Daun Puring (*Codiaeum variegatum* L.) Dengan Basis Hidrokarbon Dan Larut Air. *Indonesian Journal of Pharmacy and Natural Product*, 4(2), 68–78. <https://doi.org/10.35473/ijpnp.v4i2.1187>
- Sayuti, K., & Yenrina, R. (2015). *Antioksidan Alami dan Sintetik* (D. Fahrezionaldo & S. Y. (eds.); D. Andalas University Press
- Sharifi-Rad, M., Anil Kumar, N. V., Zucca, P., Varoni, E. M., Dini, L., Panzarini, E., Rajkovic, J., Tsouh Fokou, P. V., Azzini, E., Peluso, I., Prakash Mishra, A., Nigam, M., El Rayess, Y., Beyrouthy, M. El, Polito, L., Iriti, M., Martins, N., Martorell, M., Docea, A. O., Sharifi-Rad, J. (2020). Lifestyle, Oxidative Stress, and Antioxidants: Back and Forth in the Pathophysiology of Chronic Diseases. *Frontiers in Physiology*, 11(July), 1–21. <https://doi.org/10.3389/fphys.2020.00694>
- Suhendy, H., Afdal Alif, & Ira Rahmiyani. (2022). Korelasi Kadar Fenolik dan Flavonoid Total Terhadap Aktivitas Antioksidan Beberapa Ekstrak Daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Delile.) Menggunakan Metode FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power). *Medical Sains : Jurnal Ilmiah Kefarmasian*, 7(2), 71–82. <https://doi.org/10.37874/ms.v7i2.292>
- Suhendy, H., Astuti, N., & Gustaman, F. (2022). Kajian Fitokimia Pigmen Warna Ungu dan Profil Antioksidan pada Ekstrak Bunga Harendong (*Melastoma malabatricum* L.). *Journal of Pharmacopolium* (Vol. 5, Issue 2). http://ejurnal.universitastbh.ac.id/index.php/P3M_JoP
- Warnis, M. and Artika, L. (2021) ‘Perbandingan Rendemen Dan Kandungan Kimia Ekstrak Daun Jambu Mete (*Anacardium occidentale* L.) Dengan Beberapa Jenis Pelarut’, *JKPharm Jurnal Kesehatan Farmasi*, 3(1), pp. 63–69. Available at: <https://doi.org/10.36086/jkpharm.v3i1.907>.
- Yulianti, W., Ayuningtyas, G., Martini, R.,

& Resmeiliana, I. (2021). Pengaruh Metode Ekstraksi dan Polaritas Pelarut Terhadap Kadar Fenolik Total Daun Kersen (*Muntingia calabura* L). *Jurnal Sains Terapan*, 10(2), 41–49. <https://doi.org/10.29244/jstsv.10.2.41-4>