

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAUN BIOLA (*Ficus Lyrata* Warb.)****ANTIOXIDANT ACTIVITY OF FIDDLE LEAF (*Ficus Lyrata* Warb.)****Delta Baharyati<sup>1\*</sup>, Komar Ruslan Wirasutisna<sup>1</sup>, Rika Hartati<sup>1</sup>**

Institut Teknologi Bandung

\*Corresponding Author Email : [baharyati.delta@yahoo.com](mailto:baharyati.delta@yahoo.com)DOI : <http://dx.doi.org/10.47653/farm.v9i1.553>**ABSTRAK**

Radikal bebas merupakan salah satu faktor penyebab penyakit degeneratif dalam tubuh meningkat. Paparan radikal bebas yang berlebihan membuat tubuh membutuhkan antioksidan dari luar. Daun biola (*Ficus lyrata* Warb.) memiliki aktivitas antioksidan. Tujuan penelitian untuk menentukan aktivitas antioksidan ekstrak, fraksi dan subfraksi daun biola dengan metode peredaman 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH). Metode ekstraksi dengan cara maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Fraksinasi dilakukan dengan cara ekstraksi cair-cair menggunakan tiga pelarut dengan tingkat kepolaran meningkat, yaitu n-heksana, etil asetat, dan air-etanol, serta di pantau dengan kromatografi lapis tipis (KLT) dan di uji aktivitas antioksidan. Fraksinasi terpilih disederhanakan dengan kromatografi kolom sistem elusi gradient dan diuji aktivitas antioksidan. Hasil aktivitas antioksidan yang paling kuat ditunjukkan oleh fraksi etil asetat dengan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 9,31±0,304 µg/ml.

**Kata Kunci:** Antioksidan, DPPH, *Ficus lyrata* Warb.

**ABSTRACT**

*Degenerative diseases in the body are increasing caused by exposure to free radicals. Excessive exposure to free radicals makes the body need antioxidants from outside. The fiddle leaf (*Ficus lyrata* Warb.) has antioxidant activity. The aim of the study was to determine the antioxidant activity of extract, fractions and subfractions of fiddle leaf using 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil (DPPH) method. Extraction method by maceration using ethanol 96%. Fractionation was carried out by liquid-liquid extraction using three solvents with increasing polarity, namely n-hexane, ethyl acetate, and water-ethanol, and monitored by thin layer chromatography (TLC) and tested for antioxidant activity. The selected fraction was simplified by gradient elution system column chromatography and tested for antioxidant activity. The results of the strongest antioxidant activity was shown by the ethyl acetate fraction with IC<sub>50</sub> 9.31±0.304 µg/ml.*

**Keywords:** Antibacterial, bioautography, *Ficus lyrata* Warb.

**PENDAHULUAN**

Terdapat 600 sampai 1000 jenis tumbuhan bermarga *Ficus* yang umumnya tersebar di daerah tropis. Pusat penyebaran jenis-jenis tersebut adalah Indonesia-Malaysia, yang mencakup Malaysia, Indonesia, Filipina, Papua New Guinea, Brunei, Singapura, dan banyak terdapat di Asia Tenggara (Sastrapradja dan Afiastini, 1984). Tumbuhan bermarga *Ficus* diketahui mengandung senyawa golongan flavonoid, asam fenolat, alkaloid, steroid, saponin, kumarin, tanin, dan triterpenoid. Salah satu metabolit sekunder

yang diketahui memiliki aktivitas antibakteri serta antioksidan adalah flavonoid dan asam fenolat (Salem dkk, 2013 dan Tkachenko dkk, 2016).

Senyawa golongan flavonoid, fenol dan asam folat memiliki aktivitas sebagai antioksidan. Antioksidan merupakan senyawa yang dapat mencegah terbentuknya radikal bebas, meredam radikal bebas atau dapat memperbaiki sel yang dirusak oleh radikal bebas (Fidrianny dkk, 2013).

Radikal bebas dapat distabilkan oleh antioksidan dengan cara melengkapi elektron yang dimiliki radikal bebas dan menghambat terjadinya reaksi berantai dari pembentukan radikal bebas yang dapat menyebabkan stress oksidatif dan penyakit degeneratif (Nurhidayah, 2009 dan Winarsi, 2007). Tubuh membutuhkan antioksidan dari luar untuk membantu mengurangi stress oksidatif dan penyakit degeneratif (Winarsi, 2007).

Tujuan penelitian menentukan aktivitas antioksidan ekstrak, fraksi dan subfraksi daun biola (*Ficus lyrata* Warb.) dengan metode peredaman 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH).

## METODE PENELITIAN

Penelitian yang dilakukan meliputi penyiapan bahan, determinasi, pembuatan simplisia, pembuatan ekstrak, karekterisasi mutu simplisia dan ekstrak, penapisan fitokimia meliputi simplisia, ekstrak, dan fraksi. Pemantauan ekstrak, penapisan aktivitas antioksidan, fraksinasi, pemantauan fraksi, dan subfraksinasi.

Penyiapan bahan meliputi proses pengumpulan bahan daun biola cantik, determinasi, sortasi basah, pencucian, pemotongan, pengeringan dan penggilingan menjadi serbuk simplisia. Ekstraksi dilakukan menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol. Ekstrak yang didapat selanjutnya dikeringkan dengan *rotavapor*. Karekterisasi mutu simplisia dan ekstrak meliputi penetapan kadar air simplisia, kadar abu total, kadar abu tidak larut asam, susut pengeringan, kadar sari larut air, kadar sari larut etanol.

Penapisan fitokimia simplisia dan ekstrak yang dilakukan untuk menentukan golongan senyawa metabolit sekunder alkaloid, flavonoid, saponin, tannin, steroid/triterpenoid, terpenoid, dan kuinon. Ekstrak dipantau dengan menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT).

Ekstrak daun biola cantik diuji aktivitas antioksidan. Aktivitas antioksidan diuji menggunakan penampak bercak spesifik DPPH 0,2% dalam metanol sebagai uji awal antioksidan dan untuk menentukan senyawa target. Ekstrak yang aktif sebagai antioksidan difraksinasi menggunakan metode ekstraksi cair-cair dengan pelarut n-heksan, etil asetat, dan air-etanol. Fraksi dipantau secara KLT menggunakan sinar tampak, sinar UV  $\lambda$  254 dan  $\lambda$  366 nm, dan penampak bercak asam

sulfat 10%. Fraksi terpilih disubfraksi menggunakan kromatografi kolom klasik, subfraksi dipantau secara KLT menggunakan penampakan sinar tampak, sinar UV 254 dan 366 nm, serta penampak bercak asam sulfat 10%, DPPH 0,2% dan FeCl<sub>3</sub> 1%. Subfraksi yang terpilih diuji aktivitas antioksidan dilakukan secara *in vitro* dengan metode peredaman DPPH.

## Alat

Lampu ultraviolet (Camag), kolom kromatografi, kuvet, pelat KLT GF<sub>254</sub>, spektrofotometer UV-sinar tampak (Beckman Coulter DU 720), pipet folum, dan alat-alat gelas kimia yang umum digunakan dalam laboratorium.

## Bahan

Simplisia daun biola cantik (Pusat konservasi Tumbuhan Kebun Raya Bogor-LIPI), aluminium klorida, amil alkohol, ammonia 25%, anhidrida asetat, asam galat, asam klorida, asam sulfat, aseton, aquades, bismuth subnitrat, besi (III) klorida, etanol 96%, etil asetat, eter, formaldehid, gelatin, kalium iodida, kalium hidroksida, kloroform, raksa (II) klorida, magnesium, metanol, metilen klorida, natrium karbonat, natrium asetat, natrium hidroksida, n-heksana, silika 60, 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH).

## Metode

### Ekstraksi dan Pemantauan Ekstrak

Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi. Serbuk simplisia daun biola cantik sebanyak 3000 gram diekstraksi menggunakan pelarut etanol 96% sebanyak 30 liter dengan cara merendam serbuk simplisia beberapa kali pengadukan pada suhu ruangan. Ekstrak yang diperoleh kemudian dipisahkan menggunakan penguap vakum putar. Pemantauan ekstrak dilakukan dengan menggunakan metode kromatografi lapis tipis (KLT) dengan fase diam silika gel GF<sub>254</sub> dan fase gerak yang sesuai. Hasil penampakan bercak kemudian diamati digunakan sinar tampak dan di bawah sinar UV pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm. Selanjutnya dilakukan penyemprotan dengan penampak bercak asam sulfat 10% dan DPPH 0,2%.

### Karakterisasi Mutu Simplisia dan Ekstrak Penetapan Kadar Air

Penetapan kadar air dilakukan berdasarkan metode distilasi azeotrop.

Dilakukan penjuanan 200 ml toluena terhadap 2 ml air menggunakan metode distilasi azeotrop. Volume air distilat dicatat sebagai volume awal ( $V_0$ ). Selanjutnya 10 g serbuk simplisia dimasukkan kedalam labu destilasi dan pemanasan kembali dilakukan. Distilasi dilakukan hingga tidak ada lagi air yang menetes dan volume air distilat dicatat sebagai volume akhir ( $V_1$ ). Persen kadar air simplisia dihitung dengan rumus dan dinyatakan dalam % v/b (Depkes RI, 1995).

$$\text{Kadar air (\% v/b)} = \frac{(V_1 - V_0)}{W} \times 100\%$$

Keterangan :

W = Bobot simplisia (g)

$V_0$  = Volume air sebelum penambahan simplisia (ml)

$V_1$  = Volume air setelah penambahan simplisia (ml)

#### Penetapan Kadar Sari Larut Air

Serbuk simplisia sebanyak 5 gram ( $w_s$ ) dimaserasi 24 jam dengan 100 ml air dan 2 tetes kloroform ( $V_1$ ) dalam labu bersumbat. Campuran disaring dan 20 ml filtrat ( $V_2$ ) diuapkan pada cawan penguap yang telah ditara ( $w_0$ ). Residu dipanaskan pada suhu 105 °C hingga bobot tetap ( $w_1$ ). Persen kadar sari dalam air dihitung terhadap bahan yang dikeringkan di udara (Depkes RI, 1995).

$$\text{Kadar air (\% v/b)} = 100 \frac{(W_1 - W_0)}{WS} \times \frac{V_1}{V_2} \times 100\%$$

Keterangan :

$W_s$  = Bobot simplisia (g)

$W_0$  = Bobot cawan penguap kosong (g)

$W_1$  = Bobot cawan penguap dan residu sari (g)

$V_1$  = Volume air yang ditambahkan (ml)

$V_2$  = Volume filtrat yang diuapkan (ml)

#### Penetapan Kadar Sari Larut Etanol

Serbuk simplisia sebanyak 5 gram ( $WS$ ) dimaserasi 24 jam dengan 100 ml etanol 96% ( $V_1$ ) dalam labu bersumbat. Campuran disaring dan 20 ml filtrat ( $V_2$ ) diuapkan pada cawan penguap yang telah ditara ( $W_0$ ). Residu dipanaskan pada suhu 105 °C hingga bobot tetap ( $W_1$ ). Persen kadar sari dalam etanol 96% dihitung terhadap bahan yang dikeringkan di udara (Depkes RI, 1995).

$$\text{Kadar air (\% v/b)} = 100 \frac{(W_1 - W_0)}{WS} \times \frac{V_1}{V_2} \times 100\%$$

Keterangan :

$W_s$  = Bobot simplisia (g)

$W_0$  = Bobot cawan penguap kosong (g)

$W_1$  = Bobot cawan penguap dan residu sari (g)

$V_1$  = Volume air yang ditambahkan (ml)

$V_2$  = Volume filtrat yang diuapkan (ml)

#### Penetapan Kadar Abu Total

Serbuk simplisia sebanyak 2 gram dimasukkan kedalam krus yang telah dipijar dan ditara, kemudian diratakan. Krus yang telah berisi dengan simplisia dipijarkan hingga arang habis, didinginkan dan ditimbang. Pemijaran dilakukan hingga bobot konstan. Kadar abu dihitung terhadap bahan yang telah dikeringkan di udara (Depkes RI, 1995).

#### Penetapan Kadar Abu Tidak Larut Asam

Abu yang telah didapatkan dari abu total dididihkan dengan 25 ml asam klorida encer selama 25 menit. Bagian yang tidak larut dalam asam dikumpulkan dengan penyaringan dengan kertas saring bebas abu dan kemudian dicuci dengan air panas. Bagian yang tidak larut dalam asam dipijarkan hingga bobot konstan dan ditimbang. Kadar abu tidak larut asam dihitung terhadap bahan yang telah dikeringkan di udara (Depkes RI, 1995).

#### Penetapan Susut Pengerinan

Sebanyak 1 g serbuk simplisia dimasukkan dalam botol timbang bertutup yang telah dipanaskan sebelumnya pada suhu 105 °C selama 30 menit dan telah ditara. Serbuk diratakan dan dimasukkan ke dalam oven dengan keadaan botol ditimbang dibuka tutupnya. Pengerinan dilakukan pada suhu 105 °C hingga bobot tetap. Sebelum setiap pengerinan, botol dibiarkan dalam keadaan tertutup mendingin dalam desikator hingga mencapai suhu kamar (Depkes RI, 1995).

#### Penapisan Fitokimia

Penapisan fitokimia dilakukan pada simplisia, ekstrak, dan fraksi terhadap golongan senyawa alkaloid, flavonoid, fenol, saponin, tanin, kuinon, terpenoid dan steroid/triterpenoid dengan mengikuti metode Fransworth (1966) yang dimodifikasi.

#### Golongan Alkaloid

Sampel sebanyak 2 g ditambahkan 5 mL amonia 21 % kemudian digerus dalam mortar, selanjutnya 25 mL kloroform ditambahkan ke dalam campuran tersebut dan digerus dengan kuat. Campuran disaring kemudian filtratnya digunakan sebagai larutan percobaan (larutan

A). Larutan A diekstraksi 2 kali dengan asam klorida 10% (larutan B). Larutan A diteteskan pada kertas saring, lalu ditetesi pereaksi Dragendorff, sampel positif mengandung alkaloid bila timbul warna merah jingga. Larutan B sebanyak 5 mL dalam tabung reaksi diuji dengan pereaksi Mayer dan Dragendorff, sampel positif mengandung alkaloid jika timbul endapan merah bata pada penambahan pereaksi Dragendorff dan endapan putih pada penambahan pereaksi Mayer.

### **Golongan Flavonoid**

Sampel sebanyak 1 g ditambahkan 100 mL air panas, dididihkan selama 15 menit kemudian disaring dan diperoleh filtrat A. Filtrat A sebanyak 5 mL ditambah serbuk Mg dan ditambah 2 mL larutan alkohol-asam klorida (1:1), kemudian ditambahkan amil alkohol, dikocok kuat-kuat kemudian dibiarkan memisah. Sampel positif mengandung flavonoid jika timbul warna merah/kuning/jingga pada lapisan amil alkohol.

### **Golongan Fenol**

Filtrat A sebanyak 5 mL dalam tabung reaksi ditambahkan larutan pereaksi besi (III) klorida. Adanya senyawa golongan fenol ditandai dengan terjadinya warna hijau-biru hitam hingga hitam.

### **Golongan Tanin**

Filtrat A sebanyak 5 mL direaksikan dengan larutan  $\text{FeCl}_3$  1%. Dalam tabung lain, 5 mL filtrat ditambahkan larutan gelatin. Sampel positif mengandung tanin jika terjadi perubahan warna pada penambahan  $\text{FeCl}_3$ , dan terbentuk endapan putih pada penambahan larutan gelatin.

### **Golongan Saponin**

Filtrat A sebanyak 10 mL dalam tabung reaksi dikocok vertikal selama 10 detik dan didiamkan selama 10 menit. Bahan positif mengandung saponin bila terbentuk buih yang mantap selama tidak kurang dari 10 menit setinggi 1 cm dan buih tidak hilang ketika ditambah HCl 2N.

### **Golongan Kuinon**

Filtrat A sebanyak 5 mL ditambahkan beberapa tetes NaOH 1N. Sampel positif mengandung kuinon jika timbul warna merah.

### **Golongan Steroid/ Triterpenoid**

Sampel sebanyak 1 gram dimaserasi dengan 25 mL eter selama 2 jam kemudian disaring, diperoleh filtrat B. Filtrat B sebanyak 5 mL diuapkan dalam cawan penguap, ke dalam residu ditambahkan 2 tetes asam asetat anhidrat kemudian ditambahkan 1 tetes asam sulfat pekat. Sampel positif mengandung steroid/triterpenoid jika terbentuk warna hijau/biru -merah/ungu.

### **Uji Aktivitas Antioksidan**

Uji awal untuk mengetahui aktivitas antioksidan dengan penampak bercak spesifik menggunakan larutan DPPH 0,2% dalam metanol. Uji awal ini dilakukan untuk mengetahui harga  $R_f$  senyawa aktif antioksidan menggunakan kromatografi lapis tipis. Ekstrak yang memiliki aktivitas antioksidan ditotolkan pada plat silika gel GF<sub>254</sub>, kemudian dikembangkan dengan fase gerak yang sesuai dengan senyawa-senyawa yang terdapat pada dalam ekstrak, fraksi dan isolat. Hasil uji awal antioksidan juga sebagai penentuan senyawa target yang akan di isolasi.

### **Penetapan $IC_{50}$ Peredaman DPPH**

Masing-masing sampel dibuat beberapa konsentrasi. Satu ml larutan sampel ditambahkan dengan 1 ml larutan DPPH 60  $\mu\text{g/ml}$ . Campuran tersebut kemudian diinkubasi selama 30 menit dan diukur absorbansinya pada  $\lambda$  515 nm. Metanol digunakan sebagai blanko, satu ml larutan DPPH 60  $\mu\text{g/ml}$  ditambah satu ml metanol sebagai kontrol dan asam askorbat sebagai pembanding. Nilai  $IC_{50}$  adalah nilai yang menunjukkan besarnya konsentrasi ekstrak uji yang dapat meredam radikal bebas DPPH sebesar 50%. Nilai  $IC_{50}$  ditetapkan melalui persamaan regresi linier kurva kalibrasi yaitu persentase peredaman sebagai sumbu y dan konsentrasi antioksidan sebagai sumbu x. Nilai  $IC_{50}$  dihitung dengan cara memasukkan nilai 50% ke dalam persamaan regresi sebagai nilai y, kemudian dihitung nilai x sebagai konsentrasi  $IC_{50}$ .

### **Isolasi Senyawa**

Ekstrak daun biola cantik difraksinasi dengan menggunakan metode ekstraksi cair-cair (ECC) dengan memisahkan senyawa berdasarkan kepolarannya dengan pelarut n-heksan, etil asetat dan air. Dari ketiga fraksi yang didapat fraksi n-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air-etanol, dilakukan pemantauan

KLT dan diuji aktivitas dari ketiga fraksi yang kemudian diambil fraksi yang memiliki aktivitas antibakteri yang dominan untuk dilanjutkan subfraksinasi menggunakan kromatografi kolom klasik dengan fase diam silika gel 60. Kolom dikemas dengan cara kemas basah yaitu dimasukan terlebih dahulu pelarut n-heksan kedalam kolom, kemudian silika gel 60 dimasukan ke dalam kolom dan dimampatkan sampai mampat. Kemudian dijenuhkan dengan pelarut n-heksan. Sampel terlebih dahulu digerus dengan silika gel 60 sampai homogen, setelah itu sampel dimasukan ke dalam kolom. Fase gerak ditambahkan secara kontinyu sampai terjadi pemisahan dan elusi gradien dengan menggunakan 21 eluen dengan kombinasi n-heksan, etil asetat, dan metanol. Dari hasil fraksi dipantau menggunakan KLT dengan penampakan bercak sinar tampak,

senyawa dilihat di bawah sinar UV 254 nm dan 366 nm dan dilakukan penampakan bercak dengan asam sulfat 10% dalam metanol dan DPPH 0,2% dalam metanol.

Hasil subfraksi disederhanakan komponennya dengan menggunakan metode kromatografi kolom klasik dan didapatkan subfraksi yang kemudian dipantau dengan KLT penampakan sinar tampak, sinar UV 254 nm dan 366 nm.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil karakterisasi mutu simplisia dan ekstrak yang meliputi penetapan kadar sari larut etanol, kadar sari larut air, kadar air, kadar abu total, kadar abu tidak larut asam, dan susut pengeringan dapat dilihat pada Tabel 1.

**Tabel 1.** Karakterisasi simplisia dan ekstrak daun Biola cantik.

Karakterisasi	Hasil (% b/b)	
	Simplisia	Ekstrak
Kadar air	4,33±0,56*	7,66±0,57*
Kadar sari larut air	28,83±0,2	-
Kadar sari larut etanol	27,39±0,45	-
Kadar abu total	13,02±0,39	3,34±0,13
Kadar abu tidak larut asam	10,23±0,38	2,23±0,11
Susut pengeringan	11,09±0,04	9,95±0,6

Keterangan: \* : % (v/b)

Pada Tabel 1. Kadar air simplisia digunakan untuk mengetahui besarnya kandungan air dalam bahan. Dapat dilihat bahwa kadar air simplisia dan ekstrak uji masih memenuhi parameter mutu simplisia yang ditetapkan yaitu maksimum 10% (Depkes, 1989). Kadar sari dilakukan untuk mengetahui jumlah kandungan senyawa dalam simplisia yang dapat tersari dalam pelarut etanol dan air. Penentuan kadar abu total untuk menentukan bagus atau tidaknya pengolahan simplisia, dan mengetahui jenis bahan yang digunakan. Penentuan kadar abu erat hubungannya dengan kandungan mineral yang terdapat dalam suatu bahan, dan kebersihan suatu bahan yang dihasilkan. Sementara susut pengeringan untuk mengetahui besarnya kandungan air dalam bahan dan senyawa yang bersifat volatil yang terdapat dalam simplisia dan ekstrak.

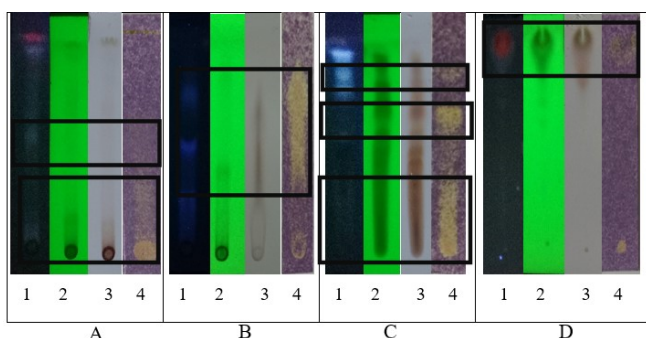
Penapisan fitokimia ini dilakukan terhadap simplisia, ekstrak, dan fraksi-fraksi untuk mengetahui keberadaan metabolit sekunder seperti golongan alkaloid, flavonoid, tanin, fenol, kuinon, saponin, dan steroid/triterpenoid (Tabel 2).

Ekstrak dan fraksi-fraksi dipantau secara KLT dengan fase diam silika gel GF<sub>254</sub> dan fase gerak yang dapat memberikan pola kromatogram yang paling baik. Penampakan bercak semprot yang digunakan adalah asam sulfat 10% dan DPPH 0,2% dalam metanol. Hasil pemantauan ekstrak etanol, fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, fraksi air-etanol dari daun biola cantik masing-masing dapat dilihat pada Gambar 1.

Tabel 2. Hasil Skrining Fitokimia

Golongan	Sampel				
	Simplisia	Ekstrak	Fraksi n-heksan	Fraksi Etil asetat	Fraksi Air-Etanol
Flavonoid	+	+	+	+	+
Fenol	+	+	+	+	+
Tanin	+	+	+	+	+
Kuinon	+	+	+	+	+
Saponin	+	+	-	+	+
Alkaloid	-	-	-	-	-
Steroid/triterpenoid	+	+	+	+	+

Keterangan: + = terdeteksi, - = tidak terdeteksi



Gambar 1. Pola kromatogram lapis tipis pemantauan

Pada Gambar 1. (A) Ekstrak dengan fase gerak kloroform-metanol (8:2), (B) Fraksi air menggunakan fase gerak etil asetat-etanol (7:3), (C) Fraksi etil asetat dengan fase gerak kloroform:metanol (8:2), dan (D) Fraksi n-heksan menggunakan fase gerak n-heksan-kloroform (7:3) di amati di sinar UV  $\lambda$  366nm (1), sinar UV  $\lambda$  254nm (2), penampak bercak (3) asam sulfat 10%, dan (4) DPPH 0,2% dalam metanol.

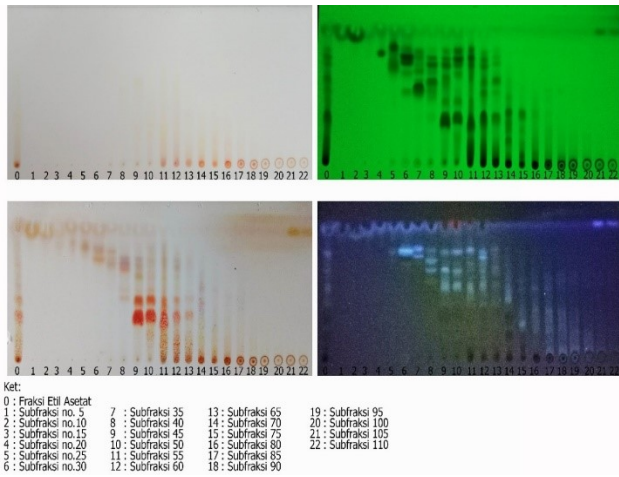
Berdasarkan hasil pemantauan ekstrak, fraksi air, fraksi etil asetat, dan fraksi n-Heksan masing-masing menunjukkan adanya senyawa antioksidan dengan penampak bercak DPPH 0,2% dalam metanol. Hasil pemantauan ekstrak, dan fraksi-fraksi pada pengujian awal menunjukkan bahwa daun biola memiliki aktivitas antioksidan dengan uji awal kualitatif penampak bercak DPPH 0,2%, sehingga dilakukan penetapan aktivitas peredaman DPPH pada ekstrak, fraksi-fraksi. Aktivitas peredaman DPPH diukur sebagai penurunan absorbansi DPPH sampel uji. Semakin cepat penurunan absorbansi sampel uji maka makin besar aktivitas antioksidan dari sampel uji. Pengujian ini dilakukan menggunakan spektrofotometer sinar UV-sinar tampak pada panjang gelombang  $\lambda$  515 nm untuk DPPH.

Tabel 3. Aktivitas antioksidan ekstrak, fraksi air, fraksi etil asetat, dan fraksi n-heksana dengan metode DPPH.

Sampel	IC <sub>50</sub> Peredaman DPPH ( $\mu$ g/ml)
Ekstrak	12,3 $\pm$ 0,030
Fraksi air	11,58 $\pm$ 0,219
Fraksi etil asetat	9,31 $\pm$ 0,304
Fraksi n-heksan	103,52 $\pm$ 2,045
Asam askorbat	3,64 $\pm$ 0,040

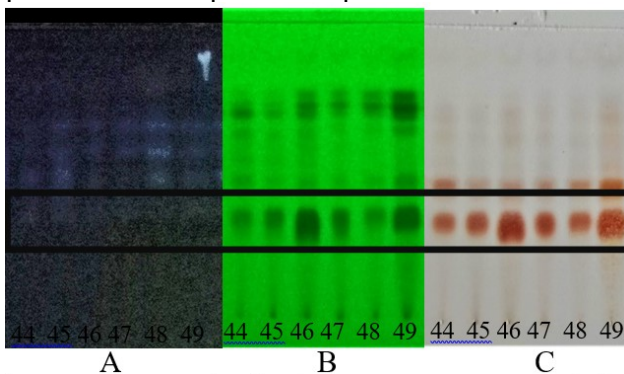
Pada tabel 3. dapat dilihat bahwa ekstrak dan fraksi-fraksi dari daun biola memiliki nilai IC<sub>50</sub> yang kurang dari 50  $\mu$ g/ml kecuali fraksi n-heksan. Menurut Blois (1958) aktivitas antioksidan berdasarkan nilai penghambatan 50% DPPH dibedakan menjadi empat diantaranya sangat kuat memiliki nilai IC<sub>50</sub> < 50  $\mu$ g/ml; kuat nilai IC<sub>50</sub> 50-100  $\mu$ g/ml; sedang nilai IC<sub>50</sub> 101-150  $\mu$ g/ml dan lemah dengan nilai IC<sub>50</sub> > 150  $\mu$ g/ml.

Dengan melihat data-data di atas, fraksi etil asetat dipilih untuk diisolasi senyawa aktif antibakteri dan antioksidannya. Subfraksinasi dilakukan dengan metode kromatografi kolom. Fase diam yang digunakan silika gel 60 dengan sistem elusi gradient menggunakan 21 seri eluen yang terdiri dari kombinasi n-heksan, etil asetat dan metanol. Didapatkan 114 subfraksi yang kemudian dipantau menggunakan KLT silika gel GF254 dengan fase gerak kloroform-metanol (8:2). Hasil pemantauan subfraksi dapat dilihat pada Gambar 2.



**Gambar 2.** Pola kromatogram lapis tipis pemantauan subfraksi dari fraksi etil asetat, fase diam silika gel GF<sub>254</sub>, fase gerak kloroform-metanol (8:2). (A) penampakan visual, (B) sinar UV  $\lambda$  254 nm, (C) sinar UV  $\lambda$  366 nm, penampak bercak asam sulfat 10% (D). Keterangan kotak hitam menunjukkan subfraksi target.

Berdasarkan pemantauan fraksi etil asetat sebelumnya dengan menggunakan pola yang sama dengan subfraksi 45 dan 50 adanya senyawa antioksidan. Dilakukan pemantauan lebih lanjut pada subfraksi 45 dan 50, yakni subfraksi 44 hingga 49. Hasil pemantauan pemantauan dapat dilihat pada Gambar 3.



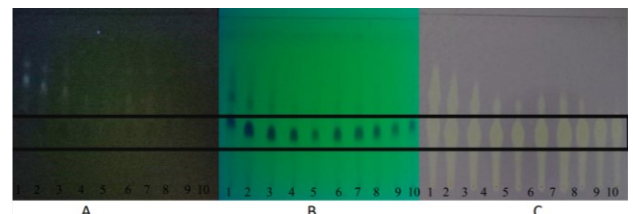
**Gambar 3.** Pola kromatogram lapis tipis pemantauan subfraksi 44-49

Hasil pola kromatogram lapis tipis pada pemantauan subfraksi fase diam silika gel GF<sub>254</sub>, fase gerak kloroform-metanol (8:2). (A) sinar UV  $\lambda$  366 nm, (B) sinar UV  $\lambda$  254 nm, penampak bercak asam sulfat 10% (C).

Uji aktivitas antibakteri dan antioksidan dilihat dari profil pemantauan KLT, maka yang akan dilanjutkan untuk pemurnian subfraksi 44 hingga 49 yang telah dipantau dan dilakukan lagi pemurnian dengan metode kromatografi kolom. Fase diam silika 60 dilakukan secara

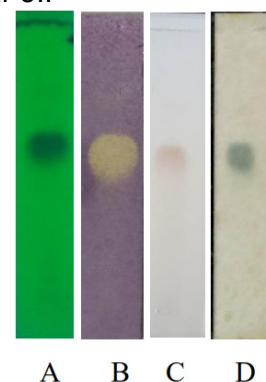
gradien menggunakan kombinasi pelarut terdiri dari n-heksan, kloroform, etil asetat dan metanol dan menghasilkan 160 subfraksi II. Hasil pemantauan subfraksi II dapat dilihat pada Gambar 3.

Pola kromatogram lapis tipis subfraksi 140 hingga 150 menghasilkan satu bercak yang diduga aktif sebagai antioksidan. Subfraksi 140 hingga 150 dipantau lebih lanjut pada subfraksi-subfraksi II di sekitar subfraksi 140 hingga 150. Hasil pemantauan subfraksi dapat dilihat pada Gambar 4.



**Gambar 4.** Pola kromatogram lapis tipis pemantauan subfraksi 140-150, fase diam silika gel GF<sub>254</sub>, fase gerak kloroform-metanol (8:2). (A) sinar UV  $\lambda$  366 nm, (B) sinar UV  $\lambda$  254 nm, (C) penampak bercak DPPH 0,2% dalam metanol.

Dari hasil pemantauan, maka dilakukan pemurnian dengan kromatografi kolom. Fase diam yang digunakan silika gel 60 dan elusi dilakukan secara isokartik kloroform-etil asetat (5:5). Selanjutnya didapatkan isolat X diperoleh dengan wujud serbuk hablur berwarna putih kemudian dipantau dengan menggunakan KLT. Hasil pemantauan isolat X pada Gambar 5..



**Gambar 5.** Pola kromatogram lapis tipis pemantauan isolat X, fase diam silika gel GF<sub>254</sub>, fase gerak kloroform-metanol (8:2). (A) sinar UV  $\lambda$  254 nm, penampak bercak DPPH 0,2% dalam metanol, (B) asam sulfat 10% dalam metanol, (C) FeCl<sub>3</sub> 1% dalam metanol.

Berdasarkan pola kromatogram hasil pemantauan Isolat X dengan penampak

bercak  $\text{FeCl}_3$  yang menunjukkan adanya senyawa golongan fenol.

#### Uji Aktivitas Antioksidan Isolat dengan Metode Peredaman DPPH

Isolat yang telah didapat, selanjutnya diuji lagi dengan metode peredaman DPPH untuk mengetahui nilai  $\text{IC}_{50}$  isolat. Dapat dilihat pada tabel 4..

**Tabel 4.** Aktivitas antioksidan isolat X dengan metode DPPH.

Sampel	$\text{IC}_{50}$ Peredaman DPPH ( $\mu\text{g/ml}$ )
Isolat X	$11,2 \pm 0,162$
Asam askorbat	$3,64 \pm 0,040$

Keterangan: ekspresi data dalam rata-rata  $\pm$  SB (n = 3)

#### KESIMPULAN

Aktivitas antioksidan menunjukkan bahwa ekstrak etanol, fraksi etil asetat dan fraksi air-etanol memiliki aktivitas antioksidan yang jauh lebih kuat dibandingkan dengan fraksi n-heksana. Aktivitas antioksidan yang paling kuat ditunjukkan oleh fraksi etil asetat dengan nilai  $\text{IC}_{50}$  sebesar  $9,31 \pm 0,304 \mu\text{g/ml}$ .

#### DAFTAR PUSTAKA

- Basudan, O.A., Ilyas, M., Parveen, M., Muhisen, M.H., Kumar, R. 2005. A new chromone from *Ficus lyrata*. *Journal of Asian Natural Products Research*. 7 (1):81–85.
- Departemen Kesehatan RI. 1995. *Materia Medika Indonesia Jilid VI*. Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan. Jakarta.
- Departemen Kesehatan RI. 2000. *Parameter standar umum ekstrak tumbuhan obat*. Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan. Jakarta. 5-19.
- Departemen Kesehatan RI. 2014). *Farmakope Indonesia edisi V* Direktorat Jendral

Pengawasan Obat dan Makanan. Jakarta. 1655.

- Farag, M.A., Abdelfattah, M.S., Badr, S.E.A., Wessjohann, A.L. 2014. Profiling the chemical content of *Ficus lyrata* extracts via UPLC-PDAqTOF-MS and chemometrics. *Natural Product Research*. 1-7.
- Fidrianny, I., Wirasutisna, k.R., Amanda, P. 2013. Senyawa Antioksidan dari Ekstrak Etil Asetat Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) dari Babakan Ciparay, Bandung Selatan, Indonesia. *Acta Pharmaceutica Indonesia*. 38 (1): 26.
- Fransworth, N.R. 1966. Biological and phytochemical screening of plants. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 55 (3):225-269.
- Gilman, E.F., Watson, D.G. 2015. *Ficus lyrata* Fiddleleaf Fig1. *Assessment of the Status of Non-Native Plants in Florida's Natural Areas*. IFAS. 1-3.
- Rizvi, W., Rizvi, M., Kumar, R., Kumar, A., Shukla, I., Parveen, M. 2010. Antibacterial activity of *Ficus lyrata* – An *in vitro* study. *Internet Journal of Pharmacology*. 8 (2).
- Salem, M.Z.M., Salem, A.Z.M., Camacho, L.M., Ali, H.M., Afr, J. 2013. Antimicrobial activities and phytochemical composition of extracts of *Ficus* species. *Microbiol*. 7 (33): 4207–4219.
- Tkachenko H., Buyun L., Terech, E., Osadowski Z., Sosnovskiy Y., Honcharenko V., Prokopiv, A. 2016. The antimicrobial activity of some ethanolic extracts obtained from *Ficus* spp. leaves against *Aeromonas hydrophila*. *Arch. Pol. Fish*. 24 (13): 219-230.
- Wibowo, D.P., Kurniati., Wirasutisna, K.R., Insanu, M. 2018. Phytochemical and Antimicrobial Studies of Five Indonesian *Ficus*, *Research Journal of Chemistry and Environment*. 22(8):24-27.