



Isolation based on antioxidant activity of 80% ethanolic extract faloak (*Sterculia quadrifida* R. Br.) stem bark

Isolasi berbasis aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol 80% kulit batang faloak (*Sterculia quadrifida* R. Br.)

Jennifer Ruskim¹, Ryanto Budiono², Kartini³, Nina Dewi Oktavianti³, Finna Setiawan^{3*}

¹ Program Sarjana, Fakultas Farmasi, Universitas Surabaya, Surabaya, Indonesia

² Departemen Kimia Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Surabaya, Surabaya, Indonesia

³ Departemen Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Surabaya, Surabaya, Indonesia

* Corresponding author: finna@staff.ubaya.ac.id

Abstract

Background: Free radicals consist of one or more unpaired electrons in an outer orbit that causes them to be more reactive. This will lead to oxidative stress, which is one of the major causes of degenerative diseases such as cancer, diabetes mellitus, and stroke. Therefore, consuming sufficient antioxidants can prevent oxidative stress. Faloak (*Sterculia quadrifida* R. Br.) is one of the endemic medicinal plants in East Nusa Tenggara and is a resource of antioxidants that are supported by scientific evidence. Until now, the information about the antioxidant compounds in Faloak was limited.

Objective: This study aims to identify active compounds in an 80% ethanol extract from Faloak bark as antioxidants based on their TLC-bioautography profiles using an ABTS assay.

Method: The methods of this study start with the preparation of simplicia, fractionation using kinetic maceration, compound group identification and TLC-bioautography, separation using column chromatography [stationary phase: silica H60; mobile phase: 2-propanol: chloroform: acetic acid glacial (5:1:0,5)], identification using a UV-Vis spectrophotometer, and antioxidant activity determination of the extract and isolate using an ABTS assay.

Result: Through this study, a subfraction (SFFE A) with a brown-red colour and a blue spot under UV 365 nm and an R_f value of 0.65 was obtained. This subfraction (SFFE A) was predicted to be a polyphenol compound. The inhibition percentages of 125, 250, and 500 ppm successively are 80,93%; 95,54%; and 96,69%.

Conclusion: The active isolate of ethanol extracting 80% of the faloak stem bark is suspected to be a polyphenol group and has strong antioxidant activity.

Keywords: faloak (*Sterculia quadrifida* R. Br.), antioxidants, isolation, kinetic maceration, column chromatography

Intisari

Latar belakang: Radikal bebas merupakan suatu molekul yang terdiri atas satu atau lebih elektron tanpa pasangan pada orbital terluar. Hal ini dapat menyebabkan tubuh mengalami stress oksidatif sehingga memicu munculnya berbagai penyakit degeneratif, seperti kanker, diabetes mellitus, serta stroke. Oleh karena itu, dengan mengonsumsi antioksidan yang cukup dapat mencegah stres oksidatif. Faloak (*Sterculia quadrifida* R. Br.) merupakan salah satu tanaman obat endemik di NTT (Nusa Tenggara Timur) yang berpotensi digunakan sebagai sumber antioksidan kuat yang didukung oleh studi ilmiah. Hingga saat ini, informasi terkait senyawa yang berperan langsung sebagai antioksidan pada tanaman ini masih terbatas.

Tujuan: Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi senyawa aktif dari ekstrak etanol 80% kulit batang yang berperan sebagai antioksidan berdasarkan profil KLT-bioautografi dengan metode ABTS.

Metode: Metode kerja dimulai dengan preparasi simplisia, fraksinasi dengan metode maserasi kinetik, identifikasi golongan senyawa dan KLT bioautografi, pemisahan dengan kromatografi kolom [(fase diam: silika H60; fase gerak: 2-propanol:kloroform:asam asetat glasial (5:1:0,5)], dan identifikasi senyawa menggunakan spektrofotometer UV-Vis, dan pengujian aktivitas antioksidan pada ekstrak dan isolate menggunakan metode ABTS.

Hasil: Melalui penelitian ini, didapatkan subfraksi (SFPE A) berwarna merah-kecoklatan yang memiliki noda berfluoresensi biru pada UV 366 dengan nilai Rf 0,65 dengan pengamatan UV 365 nm. Sub fraksi (SFPE A) yang didapatkan diduga merupakan senyawa golongan polifenol. Persentase inhibisi subfraksi pada konsentrasi 125, 250, dan 500 ppm secara berturut-turut adalah 80,93; 95,54; dan 96,69%.

Kesimpulan: Isolat aktif dari ekstrak etanol 80% kulit batang faloak diduga merupakan golongan polifenol dan memiliki aktivitas antioksidan yang kuat.

Kata kunci: faloak (*Sterculia quadrifida* R.Br), antioksidan, isolasi, maserasi kinetik, kromatografi kolom

1. Pendahuluan

Radikal bebas merupakan suatu molekul yang terdiri atas elektron yang tidak berpasangan pada orbital terluar yang menyebabkan terjadinya ketidakseimbangan sehingga elektron akan bersifat lebih reaktif untuk mencari pasangan dengan menarik atau mengikat elektron yang berada di sekitarnya (Amin *et al.*, 2015). Proses oksidasi yang terus menerus dapat menyebabkan tubuh mengalami stress oksidatif yang merupakan salah satu penyebab terbentuknya penyakit degeneratif, seperti kanker, diabetes mellitus, serta *stroke* yang termasuk ke dalam Penyakit Tidak Menular (PTM) (Werdhasari, 2014). Berdasarkan Laporan Nasional Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS) tahun 2018, didapatkan prevalensi kejadian kanker, diabetes mellitus, dan *stroke* secara berturut-turut adalah 1,79%; 1,5%; dan 10,9%. Maka dari itu, pemberian senyawa antioksidan menjadi salah satu cara untuk mencegah stress oksidatif.

Antioksidan merupakan senyawa yang berkontribusi dengan mendonorkan satu atau lebih elektron kepada radikal bebas (Soeharto & Tenda, 2018). Senyawa ini dapat berasal dari dalam tubuh atau luar tubuh yang bekerja dengan menetralisasi radikal bebas yang merusak biomolekul yang terdapat dalam tubuh seperti, protein, lipoprotein, DNA, dan lain-lain (Dillak *et al.*, 2019). Jika kadar radikal bebas meningkat sedangkan antioksidan yang berada dalam tubuh tidak cukup untuk menetralisasinya, maka sangat diperlukan asupan sumber antioksidan dari luar.

Berdasarkan LIPI (2015), terdapat 7.500 tanaman obat yang terdapat di Indonesia pada tahun 2015, salah satunya adalah faloak (*Sterculia quadrifida* R.Br). Tanaman ini merupakan salah satu tanaman khas Nusa Tenggara Timur (NTT) yang banyak dimanfaatkan masyarakat dalam pengobatan. Secara empiris, kulit batang (klika) dari tanaman ini merupakan bagian yang paling banyak dimanfaatkan oleh masyarakat provinsi NTT sebagai antimikroba, antimalaria, memulihkan gangguan fungsi hati, meningkatkan stamina, sakit pinggang, serta maag (Siswadi *et al.*, 2016; Tenda *et al.*, 2017). Tanaman ini juga sering digunakan oleh suku Aborigin di Australia untuk menyembuhkan luka, sakit mata, dan sengatan lebah. Faloak juga digunakan untuk pengobatan hepatitis, anemia, *rheumatism*, dan utamanya digunakan sebagai pengobatan hepatitis (Siswadi *et al.*, 2015). Selain itu, digunakan sebagai antioksidan untuk mencegah terjadinya penyakit degeneratif seperti diabetes, kanker, hepatitis, dan tifus (Darojati *et al.*, 2022).

Aktivitas antioksidan dari tanaman faloak telah dibuktikan oleh beberapa studi yang telah dilakukan sebelumnya. Penelitian yang telah dilakukan oleh Dillak *et al.* (2019) menunjukkan bahwa ekstrak etanol kulit batang faloak memiliki aktivitas antioksidan dengan merupakan nilai IC_{50} sebesar 14,17 $\mu\text{g/mL}$. Penelitian yang dilakukan oleh Saragih & Siswadi (2019) juga melaporkan bahwa kulit batang pada tanaman faloak yang baru tumbuh memiliki nilai IC_{50} yang lebih kecil dibandingkan dengan vitamin C, yaitu 2,51 $\mu\text{g/mL}$. Hal ini dapat mengategorikan bahwa faloak dapat dijadikan sebagai sumber antioksidan kuat.

Hasil yang dilaporkan melalui identifikasi golongan terhadap ekstrak etanol menyatakan adanya kandungan saponin, flavonoid, polifenol, kuinon, monoterpenoid-seskuiterpenoid, dan steroid-triterpenoid (Faramayuda *et al.*, 2022). Pada penelitian dilakukan oleh Dillak *et al.* (2019) juga menunjukkan bahwa metabolit sekunder yang terdapat dalam faloak adalah flavonoid, fenol, dan tanin yang dapat berperan sebagai antioksidan serta kadarnya paling tinggi dapat ditemukan pada bagian kulit batang. Potensi tanaman faloak (*S. quadrifida*) sebagai antioksidan sudah terbukti melalui beberapa studi sebelumnya. Akan tetapi, hingga saat ini, studi terkait senyawa aktif sebagai antioksidan dalam tanaman faloak masih terbatas. Oleh karena itu, dilakukan isolasi senyawa aktif yang berperan sebagai antioksidan dalam tanaman faloak. Tahapan isolasi dimulai dari preparasi simplisia, pembuatan ekstrak, pemisahan dengan kromatografi kolom, hingga identifikasi senyawa dengan spektrofotometer UV-Vis.

2. Metode

2.1 Desain penelitian

Penelitian yang akan dilakukan adalah penelitian eksperimental. Pada penelitian ini, akan dilakukan isolasi senyawa berbasis aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol 80% kulit batang faloak (*S. quadrifida*). Penelitian ini diawali dengan preparasi simplisia; fraksinasi dengan metode maserasi kinetik dengan pelarut n-heksan, etil asetat, dan etanol 80%; pengujian aktivitas antioksidan ekstrak; identifikasi golongan dan KLT bioautografi; pemisahan dengan kromatografi kolom; identifikasi senyawa yang berperan sebagai antioksidan dilakukan pada ekstrak etanol 80% kulit batang Faloak (*S. quadrifida*) yang dipandu dengan pengujian aktivitas antioksidan secara kualitatif.

2.2 Bahan dan alat

2.2.1 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kulit batang faloak, n-heksan (Merck®), etil asetat (Merck®), etanol (Merck®), aquadem, ABTS atau asam 2,2'-azinobis(3-etolbenzotiazoline-6-sulfonat) (Sigma Aldrich®), kalium persulfat (Merck®), 2-aminoetil difenilborinat (Sigma Aldrich®), PEG 5% (Merck®), FeCl₃ (Merck®), 2-propanol (Merck®), kloroform (Merck®), asam asetat glasial (Merck®), plat KLT silika *gel* G60 F₂₅₄ 20 x 20 cm (Merck®), silika *gel* H60 (Merck®), dan metanol (Merck®).

2.2.2 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *grinder*, *magnetic stirrer*, *magnetic bar*, timbangan analitik (Ohaus®), *rotary evaporator* (Buchi R114), *waterbath* (Mammert), *chamber* (CAMAG®), *microplate reader* (FLUOstar® Omega), *micropipette* (Socorex®), spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu® UV-1900), *chamber* kromatografi (CAMAG®), kolom kromatografi (Pyrex).

2.3 Preparasi simplisia kulit batang faloak (*S. quadrifida*)

Kulit batang faloak yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari Pulau Timor, Sumba, dan Pantar, Nusa Tenggara Timur (NTT). Tanaman telah dideterminasi dengan nomor 53/HB/03/2022 oleh Herbarium Jatinangor, Laboratorium Taksonomi Tumbuhan, Universitas Padjajaran. Kulit batang faloak disortasi secara basah, kemudian dikeringkan dengan diangin-anginkan selama kurang lebih satu minggu. Selanjutnya, disortasi kering dan dilakukan penggilingan dengan menggunakan *grinder*. Serbuk kulit batang yang sudah halus dapat disimpan dalam tempat kering.

2.4 Penyiapan ekstrak kulit batang faloak (*S. quadrifida*)

Metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi kinetik menggunakan *magnetic stirrer* dengan kecepatan 850 rpm menggunakan pelarut dengan n-heksan, etil asetat, dan etanol 80%. Rasio simplisia dan pelarut pengestraksi adalah sebesar 1:3. Proses ekstraksi dilakukan selama 3 x 1 jam. Ekstrak yang diperoleh dipekatkan dengan *rotary evaporator* untuk selanjutnya dipekatkan dengan *waterbath* hingga menjadi ekstrak kental. Selanjutnya, dihitung persentase rendemen dengan menggunakan **Persamaan 1**. Ekstrak kental disimpan di desikator selama sehari dan kemudian dipindahkan ke dalam pot coklat dan disimpan dalam suhu 4-8°C.

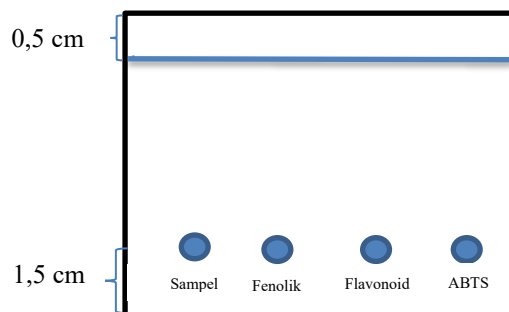
$$\text{Rendemen ekstrak (\%)} = \frac{\text{bobot ekstrak kental (g)}}{\text{bobot simplisia awal (g)}} \times 100\%$$

2.5 Kromatografi lapis tipis pada ekstrak kulit batang faloak (*S. quadrifida*)

Sebanyak 20 mg ekstrak kental etanol 80% kulit batang faloak dalam dilarutkan 5 mL etanol 80%. Selanjutnya, disonikasi selama 5 menit. Kemudian, *chamber* dijenuhkan dengan fase gerak 2-propanol: kloroform: asam asetat glasial (5:1:0,5). Penotolan dengan menggunakan pipa kapiler sebanyak 10 μ L pada fase diam silika gel GF 254. Pelat KLT hasil eluasi dianalisis untuk golongan senyawa dan aktivitas antioksidan.

2.5.1 Identifikasi golongan senyawa

Pada studi ini, dilakukan identifikasi golongan senyawa pada golongan flavonoid dengan menggunakan pereaksi 2-aminoetil difenilborinat dan PEG 5%; polifenol dengan menggunakan FeCl_3 1%. Layout untuk tempat penotolan dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Layout plat KLT identifikasi golongan dan uji aktivitas antioksidan

2.5.2 KLT bioautografi aktivitas antioksidan

Prosedur pengujian KLT Bioautografi aktivitas antioksidan dengan teknik semprot menggunakan ABTS.

a) Penyiapan larutan ABTS

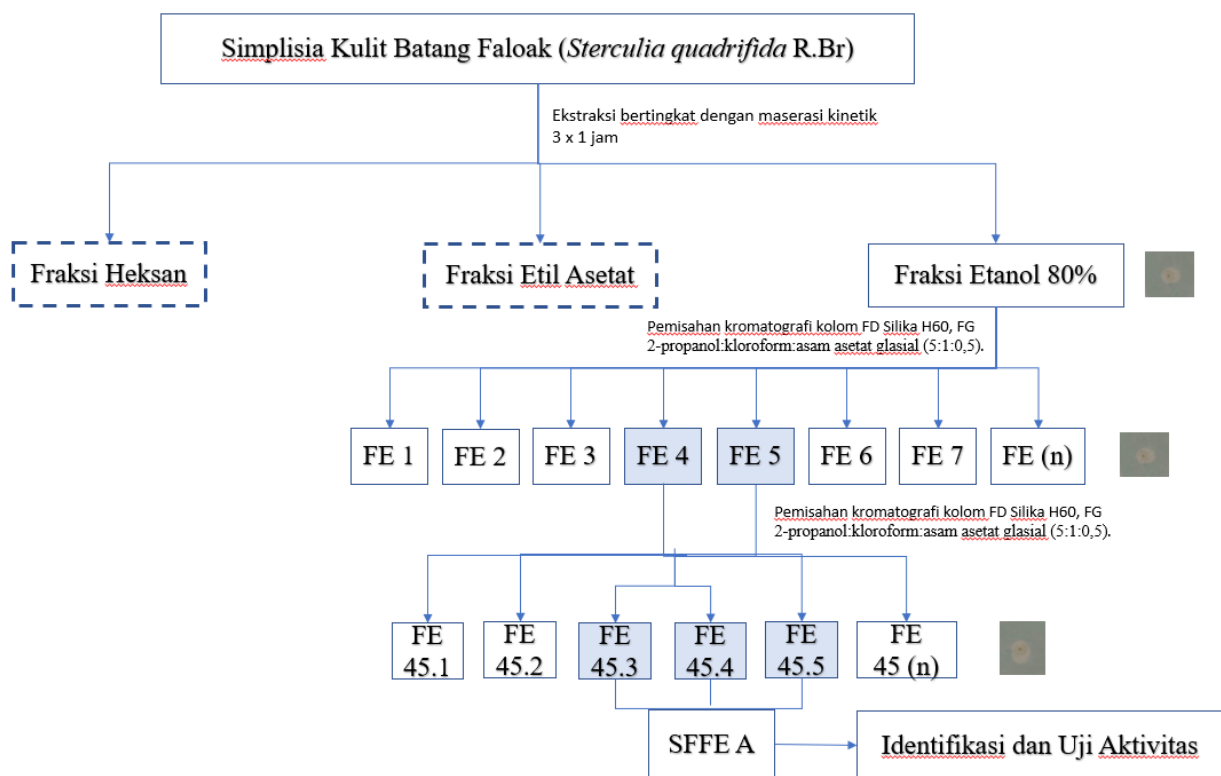
Serbuk ABTS dan kalium persulfat ditimbang berturut-turut sebanyak 7,1 dan 3,5 mg. Masing-masing serbuk dilarutkan dengan aquades sebanyak 5 mL. Selanjutnya, larutan diinkubasi di dalam ruangan gelap selama 12 jam. Berikutnya, larutan dicampur dan ditambahkan aquades hingga volume larutan mencapai 25 mL (Setiawan *et al.*, 2018).

b) Pengujian aktivitas antioksidan dengan klt bioautografi

Layout plat KLT yang digunakan untuk identifikasi golongan dan aktivitas antioksidan secara KLT Bioautografi dapat dilihat pada Gambar 1. Pada pengujian aktivitas antioksidan secara KLT bioautografi dilakukan penyemprotan dengan pereaksi ABTS (*2,2'-Azinobis[3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid]-diammonium salt*) yang berwarna dasar biru-hijau. Adanya noda berwarna putih dengan latar belakang hijau menunjukkan bahwa senyawa mengandung aktivitas antioksidan (Gaurav *et al.*, 2023)

2.6 Pemisahan dengan kromatografi kolom

Ekstrak dipisahkan lebih lanjut melalui kromatografi kolom dengan sistem isokratik. Penyiapan kolom dilakukan dengan menimbang silika *gel* 60 sebanyak 5 gram. Sampel dikeringkan menggunakan silka kemudian dimasukkan ke dalam kolom. Pemisahan dengan kromatografi kolom menggunakan sistem pemisahan isokratik dengan fase gerak 2-propanol:kloroform:asam asetat glasial (5:1:0,5) (Gambar 2). Pemisahan dilakukan teknik kromatografi kolom dengan spesifikasi diameter 2.5 cm dan panjang kolom 28 cm. Mula-mula, dilakukan pengeringan ekstrak dengan silika H60. Selanjutnya, ekstrak kering akan di-*loading* sebanyak 1 gram yang setara dengan 0,5 g ekstrak kental. Pemisahan dengan kolom kromatografi dilakukan sebanyak 3 kali yang ditampung sebanyak 5 mL dalam vial yang sudah dikalibrasi.



Gambar 2. Skema isolasi ekstrak etanol 80% kulit batang faloak dengan kromatografi kolom
Keterangan: FE = Fraksi Etanol; SFFE A = Sub Fraksi Fraksi Etanol Aktif (Subfraksi Target)

Selanjutnya, fraksi yang didapatkan akan dilakukan pemantauan menggunakan KLT analitik dengan sistem fase gerak yang sama untuk menentukan posisi dari senyawa target. Seluruh fraksi dipantau secara kualitatif menggunakan reagen ABTS untuk memastikan bahwa fraksi merupakan fraksi yang memiliki aktivitas antioksidan.

2.7 Identifikasi subfraksi aktif menggunakan spektrofotometer UV-Vis

Subfraksi dilarutkan dalam metanol p.a. hingga larut sempurna. Kemudian, dilakukan *wavelength scanning* pada rentang 200-800 nm untuk mengetahui panjang gelombang maksimal.

2.8 Pengukuran aktivitas antioksidan pada subfraksi aktif menggunakan ABTS

Masing-masing sampel dan larutan pembanding dipipet sebanyak 200 μ L dan dimasukkan ke dalam *96-well clear polystyrene microplate*. Selanjutnya, ditambahkan larutan ABTS sebanyak 20 μ L kedalam *well*, kemudian didiamkan selama 5 menit. Selanjutnya, serapan dibaca dengan *microplate reader* pada panjang gelombang 730 nm.

2.9 Metode analisis data

Pengujian aktivitas antioksidan akan dilakukan dengan *microplate reader*. Data akan didapatkan dalam bentuk absorbansi dan dihitung menggunakan persamaan berikut untuk mendapatkan % inhibisi.

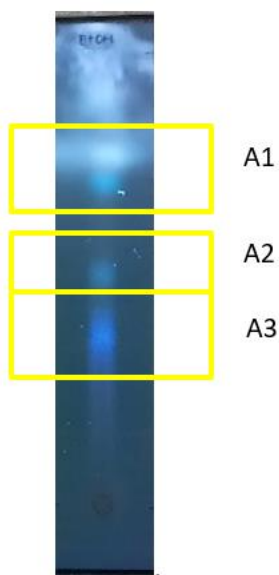
$$\text{Aktivitas Antioksidan} = \frac{(\text{absorbansi kontrol negatif} - \text{absorbansi sampel})}{\text{absorbansi kontrol negatif}} \times 100\%$$

3. Hasil dan pembahasan

Proses fraksinasi dengan maserasi kinetik bertingkat dilakukan selama 3x1 jam dengan kecepatan 850 rpm. Ekstrak etanol 80% kulit batang faloak (*S. quadrifida*) berwarna merah kecoklatan dengan tekstur kental seperti yang ditunjukkan pada Gambar 3. Hasil rendemen ekstrak etanol 80% yang didapatkan pada penelitian ini sebesar $8,13 \pm 0,584$ %. Hasil ini lebih baik dibandingkan dengan hasil maserasi ekstrak etanol 96% yang dilakukan oleh Siswadi *et al.* pada tahun 2015 dengan persentase rendemen yaitu sebesar 4,75%. Penambahan pengadukan pada metode maserasi dapat meningkatkan rendemen dari suatu proses ekstraksi karena adanya peningkatan kontak antara simplisia dan pelarut. Peningkatan pergerakan antara pelarut dan simplisia dapat meningkatkan laju difusi dan menurunkan waktu ekstraksi (Rahmah *et al.*, 2018). Pada proses ekstraksi digunakan etanol 80% dengan tujuan untuk menyari senyawa metabolit sekunder khususnya fenolik dan flavonoid. Dillak *et al.* (2019) menyatakan bahwa faloak memiliki kandungan fenolik dan flavonoid dalam jumlah banyak khususnya paling tinggi kadarnya pada bagian kulit batang.



Gambar 3. (a) Kulit batang falloak (*S. quadrifida*), (b) Ekstrak etanol 80% kulit batang falloak (*S. quadrifida*)

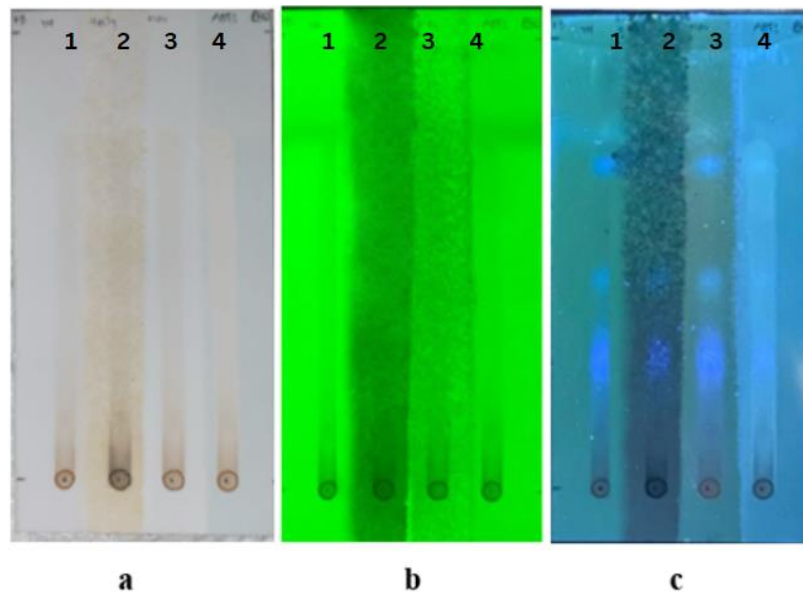


Gambar 4. Hasil eluasi ekstrak etanol 80% kulit batang falloak (*S. quadrifida*)

Keterangan: FD (Silika gel GF 254); FG (propanol:kloroform:asam asetat glasial (5:1:0,5)

Sistem KLT yang digunakan menggunakan fase diam Silika gel GF 254 dan fase gerak 2-propanol:kloroform:asam asetat glasial (5:1:0,5) yang merupakan modifikasi dari fase gerak 2-propanol:kloroform: asam asetat glasial (5:1:1) yang telah dicoba oleh Rollando & Prilianti (2017) pada ekstrak etanol kulit batang Faloak. Hasil eluasi (Gambar 4) menghasilkan 3 noda dengan masing-masing Rf secara berturut-turut adalah 0,65 (A1); 0,49 (A2); dan 0,39 (A3).

Tahap selanjutnya adalah identifikasi golongan serta KLT Bioautografi dengan menggunakan ABTS. Identifikasi golongan flavonoid dengan menggunakan pereaksi 2-aminoetil difenilborinat dan PEG 5%, serta golongan polifenol dengan menggunakan FeCl_3 1%.



Gambar 5. Hasil identifikasi golongan dan KLT bioautografi ekstrak etanol 80% kulit batang faloak (*S. quadrifida*)

Keterangan: a: sinar tampak; b: UV 254 nm; c: UV 366 nm; (1: Setelah eluasi ; 2: FeCl₃ 1%; 3: NP/PEG; 4: ABTS)

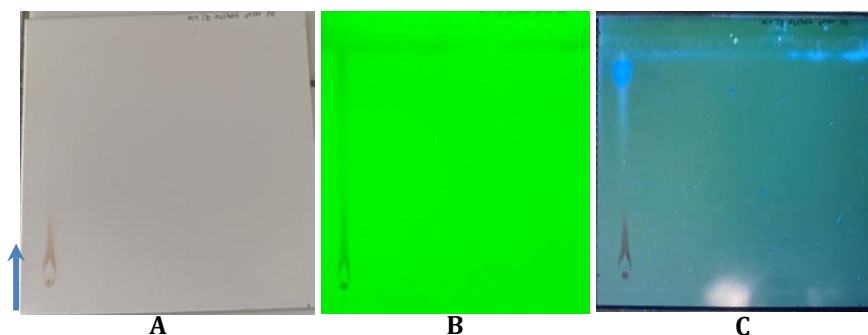
Berdasarkan hasil identifikasi golongan yang ditunjukkan oleh Gambar 5, dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol 80% kulit batang faloak (*S. quadrifida*) mengandung golongan senyawa polifenol dan flavonoid. Pada beberapa penelitian lain telah diketahui kandungan metabolit sekunder dalam faloak seperti alkaloid, flavonoid, terpenoid, steroid, dan tannin yang ditemukan pada hampir semua tanaman pada genus *Sterculia*. Golongan senyawa fenolik dan flavonoid diketahui memiliki peranan penting khususnya pada aktivitas antioksidan (Darojati *et al.*, 2022).

Gugus polifenol berperan sebagai antioksidan dengan menguraikan radikal peroksida (ROO^{*}) dan radikal hidroksi (HO^{*}), transfer elektron tunggal sehingga menghasilkan reaksi yang lebih stabil (Zeb, 2020). Identifikasi golongan polifenol dilakukan dengan pereaksi FeCl₃ 1%, di mana akan dikatakan positif bila terjadi pembentukan warna hijau, merah ungu, biru, atau hitam pekat pada sinar tampak yang merupakan reaksi antara gugus polifenol dengan ion Fe³⁺ membentuk kompleks besi (III) heksafolat (Susanti *et al.*, 2017; Rismawati *et al.*, 2018).

Flavonoid berperan sebagai antioksidan eksogen sehingga mencegah kerusakan sel akibat stres oksidatif. Golongan senyawa ini akan berperan dalam mendonorkan ion hidrogen yang akhirnya dapat menetralkan radikal bebas. Pada studi ini, hasil eluasi dengan fase gerak ini memberikan sebanyak 3 noda yang berfluoresensi biru dengan lampu UV 365 nm yang merupakan ciri khas dari flavonoid. Identifikasi golongan flavonoid dilakukan dengan pereaksi 2-aminoetil difenilborinat dan PEG 5%. Senyawa dapat dikatakan positif mengandung golongan senyawa

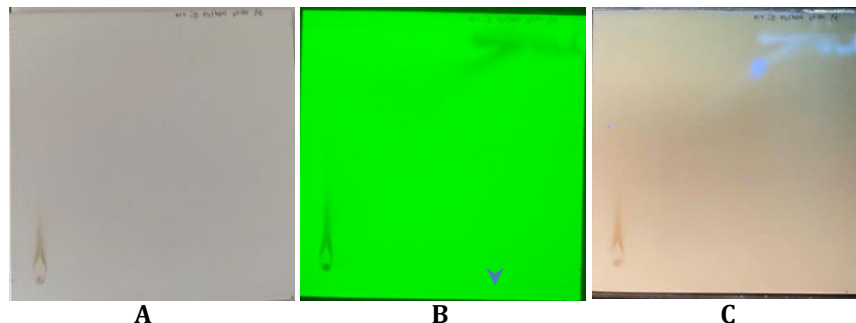
flavonoid bila terbentuk warna hijau-kuning berfluoresensi, biru muda intensif, oren, jingga, dan ungu tua dibawah lampu UV 366 nm (Nile & Park, 2015).

KLT Bioautografi adalah suatu metode deteksi yang mengkombinasikan teknik kromatografi lapis tipis (KLT) dan dilanjutkan dengan pengujian aktivitas biologi. Metode ini secara cepat dapat mengidentifikasi senyawa aktif yang terdapat dalam suatu tanaman. Pada pelat penyemprotan dengan reagen ABTS, ekstrak etanol 80% kulit batang Faloak menunjukkan adanya noda yang aktif memiliki aktivitas antioksidan ditunjukkan dengan adanya noda putih berlatar belakang biru-hijau. Oleh karena itu, pada studi ini, noda yang menjadi target untuk diisolasi adalah noda berwarna biru dibawah lampu UV 366 nm dengan Rf 0,65. Hal ini berdasarkan beberapa pertimbangan, antara lain adalah noda merupakan noda aktif, *spot* noda yang muncul cukup dominan, dan efisiensi pemisahan yang baik.



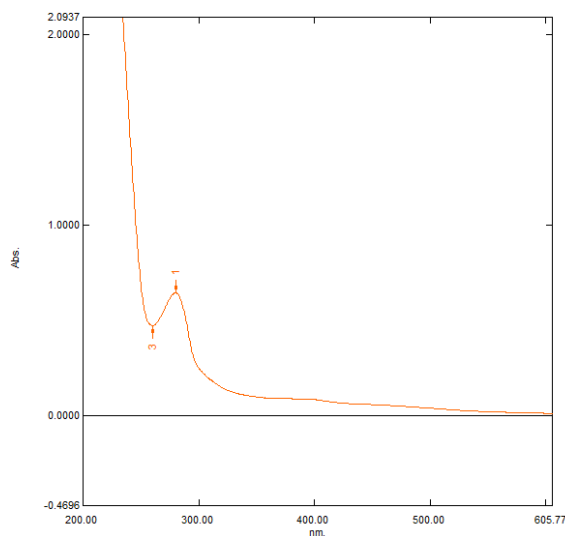
Gambar 6. Hasil eluasi pertama pemantauan uji kemurnian subfraksi etanol 80% kulit batang faloak (*S. quadrifida*)
(a: sinar tampak; b: UV 254 nm; c: UV 366 nm)

Pada tahap pemisahan menggunakan kromatografi kolom pada fraksi etanol 80%, Selanjutnya dilakukan fraksinasi yang dipandu dengan uji aktivitas antioksidan menggunakan ABTS secara kualitatif. Kromatografi kolom menggunakan fase diam Silika H60 dan fase gerak kombinasi 2-propanol:kloroform:asam asetat glasial (5:1:0,5). Sistem isolasi yang digunakan merupakan isokratik dengan target yang didasarkan pada hasil KLT bioautografi. Pada tahap ini didapatkan fraksi yang terdapat noda target yang selanjutnya diberi kode SFFE A. Pengujian kemurnian dan aktivitas antioksidan dilakukan pada isolat target (SFFE A).



Gambar 7. Hasil eluasi kedua pemantauan uji kemurnian (diputar 90°) subfraksi etanol 80% kulit batang faloak (*S. quadrifida*)
(a: sinar tampak; b: UV 254 nm; c: UV 366 nm)

Uji kemurnian dengan KLT 2 dimensi menggunakan 2 jenis fase gerak, yaitu 2-propanol:kloroform:asam asetat glasial (5:1:0,5) dan 2-propanol:kloroform:asam asetat glasial (7:1:0,5). Mula-mula subfraksi ditotolkan pada plat dan di eluasi dengan fase gerak 2-propanol:kloroform: asam asetat glasial (5:1:0,5). Selanjutnya, plat diputar 90° dan di eluasi dengan fase gerak 2-propanol:kloroform:asam asetat glasial (7:1:0,5). Hasilnya menunjukkan bahwa subfraksi yang didapatkan belum murni karena masih ditemukan adanya noda yang lain seperti yang terlihat pada Gambar 6 dan 7.



Gambar 8. Hasil analisis isolat SFFE A menggunakan spektrofotometer UV-Vis dalam metanol

Tabel 1. Hasil pengujian isolat (SFFE A) ekstrak etanol 80% kulit batang faloak (*Sterculia quadrifida* R.Br)

Konsentrasi (ppm)	Aktivitas Antioksidan (%)	SD	KV (%)
125	80,93	3,563	4,40
250	95,54	2,148	2,25
500	96,69	5,242	5.43

Pada tahap selanjutnya dilakukan identifikasi panjang gelombang maksimum (λ_{maks}) menggunakan spektrofotometer. Penelitian ini menggunakan metanol sebagai pelarut karena memiliki nilai *cut off* yang lebih rendah, yaitu 205 nm, jika dibandingkan dengan etanol yang memiliki nilai *cut off* sebesar 210 nm. Hasil analisa menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada subfraksi target (SFFE A) diperoleh 1 puncak jelas pada daerah 280 nm (Gambar 8). Berdasarkan hasil analisa identifikasi KLT menggunakan $FeCl_3$ menunjukkan adanya warna coklat dan profil spektrum yang dihasilkan diduga isolat yang diperoleh merupakan senyawa golongan fenolik, dimana golongan fenolik diketahui memiliki panjang gelombang maksimal pada kisaran antara 260 nm hingga 295 nm (Harborne, 1987).

Pengujian aktivitas isolat (SFFE A) secara *in vitro* menggunakan metode ABTS dilakukan untuk melihat potensi isolat sebagai antioksidan. Berdasarkan Tabel 1, pada konsentrasi 125 ppm, 250 ppm, dan 500 ppm rata-rata persentase inhibisi yang didapatkan secara berturut-turut adalah 80,93; 95,54; dan 96,69%. Hal ini menunjukkan bahwa isolat (SFFE A) merupakan senyawa yang memiliki potensi antioksidan yang kuat. Beberapa penelitian lain menyebutkan beberapa senyawa aktif dalam kulit batang faloak telah diisolasi dan diidentifikasi memiliki potensi sebagai antioksidan, antara lain *sterculic acid*, *cycloart-25-ene-3 β ,24-diol*, *sterculinaldehyde*, *stigmast-5-en-3-ol*, dan β -*sitosterol* (Rollando *et al.*, 2023).

4. Kesimpulan

Pada penelitian ini diperoleh isolat aktif (SFFE A) yang berperan sebagai antioksidan dari ekstrak etanol 80% kulit batang Faloak (*Sterculia quadrifida* R.Br) dengan karakteristik fisik berwarna merah kecoklatan, noda berfluorosensi biru pada pengamatan UV 365 dan nilai R_f sebesar 0,65, memiliki panjang gelombang maksimum (λ_{maks}) pada 280 nm. Senyawa ini diduga termasuk golongan polifenol dan memiliki potensi antioksidan yang kuat dengan % inhibisi 80,93% pada konsentrasi 125 ppm dengan metode pengujian ABTS.

Ucapan terimakasih

Ucapan terima kasih diberikan kepada LPPM Universitas Surabaya yang telah memberikan pendanaan dalam skema Hibah Publikasi Berkualitas tahun 2021-2022.

Daftar Pustaka

Amin, A., Wunas, J., & Anin, Y. M. (2015). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Klika Faloak (*Sterculia quadrifida* R. Br) dengan metode DPPH (2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl). *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 2(2), 111-114. <https://doi.org/10.33096/jffi.v2i2.180>

- Darojati, U. A., Murwanti, R., & Hertiani, T. (2022). *Sterculia quadrifida* R.Br: A Comprehensive Review of Ethnobotany, Phytochemistry, Pharmacology and Toxicology. *J Pharm Sci*, 7(1), 2. <https://doi.org/10.20961/jpscr.v7i1.52244>
- Dillak, H. I., Kristiani, E. B. E., & Kasmiyati, S. (2019). Secondary Metabolites and Antioxidant Activity of Ethanolic Extract of Faloak (*sterculia quadrifida*). *Biosaintifika: Journal of Biology & Biology Education*, 11(3), 296-303. <https://doi.org/10.15294/biosaintifika.v11i3.20736>
- Faramayuda, F., Ratnawati, J., & Syam, A. K. (2022). Karakterisasi Farmakognosi Daun Faloak (*Sterculia quadrifida* R. Br): . *Medical Sains: Jurnal Ilmiah Kefarmasian*, 7(2), 327-334. <https://doi.org/10.37874/ms.v7i2.322>
- Gaurav, Anwar, N., Zahiruddin, S., & Ahmad, S. (2023). TLC-bioautography-MS-based Identification of Antioxidant, α -Amylase and α -Glucosidase Inhibitory Compounds in a Polyherbal Formulation "Sugreen-120". *Pharmacognosy Magazine*, 19(2), 254-268. <https://doi.org/10.1177/09731296221145064>
- Harborne, J. B. (1987). Metode fitokimia: Penuntun cara modern menganalisis tumbuhan. *Bandung: Penerbit ITB*.
- LIPI. (2015). *Indonesia Miliki 7.500 Tanaman Obat*. Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia. diakses pada 1 Juli 2022 from <http://lipi.go.id/berita/single/Indonesia-Miliki-7500-Tanaman-Obat/11540>
- Nile, S. H., & Park, S. W. (2015). Chromatographic Analysis, Antioxidant, Anti-Inflammatory, and Xanthine Oxidase Inhibitory Activities of Ginger Extracts and Its Reference Compounds. *Industrial Crops and Products*, 70, 238-244. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.03.033>
- Rahmah, N. L., Dewanti, B. S., & Azizah, F. (2018). Combination of Kinetic Maceration-Digestion in the Extraction of Areca Seeds (*Areca catechu* L.). *Advances in Food Science, Sustainable Agriculture and Agroindustrial Engineering (AFSSAAE)*, 1(2), 27-33. <https://doi.org/10.21776/ub.afssaae.2018.001.02.4>
- Rismawati, R., Marliana, E., & Daniel, D. (2018). Phytochemical Test on Methanol Extract of Leaf of *Macaranga hullettii* King ex Hook. f. *Jurnal Atomik*, 3(2), 91-94.
- Rollando, R., Monica, E., Afthoni, M. H., Warsito, W., Masruri, M., & Widodo, N. (2023). A Phenylpropanoid Compound from the Seeds of *Sterculia quadrifida* and its Cytotoxic Activity. *Tropical Journal of Natural Product Research*, 7(6), 3203-3208. <https://doi.org/10.26538/tjnpr/v7i6.21>
- Rollando, R., & Prilianti, K. R. (2017). Fraksi Etil Asetat Kulit Batang Faloak (*Sterculia quadrifida* R. Br) Menginduksi Apoptosis dan Siklus Sel Pada Sel Kanker Payudara T47D. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Community*, 14(1), 1-14. <https://doi.org/10.24071/jpsc.141557>
- Saragih, G. S., & Siswadi, S. (2019). Antioxidant activity of plant parts extracts from *Sterculia quadrifida* R. Br. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 12(7), 143-148. <https://doi.org/10.22159/ajpcr.2019.v12i7.33261>
- Setiawan, F., Yunita, O., & Kurniawan, A. (2018). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kayu Secang (*Caesalpinia sappan*) Menggunakan Metode DPPH, ABTS, dan FRAP. *Media Pharmaceutica Indonesiana*, 2(2), 82-89. DOI: <http://journal.ubaya.ac.id/index.php/MPI/issue/view/74>
- Siswadi, S., Faridah, E., & Hertiani, T. (2015). *Rendemen Ekstrak Dan Flavonoid Total Kulit Batang Pohon Faloak (Sterculia quadrifida R.Br.) Pada Beberapa Kelas Diameter Dan Strata Ketinggian Tempat Tumbuh* Tesis, Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Siswadi, S., Pujiono, E., Rianawati, H., & Saragih, G. S. (2016). Nilai Ekonomi Kulit Batang Pohon Faloak (*Sterculia quadrifida* R. Br.). *Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences*,
- Soeharto, F., & Tenda, P. E. (2018). Antioxidant activity of instant Faloak (*Sterculia quadrifida* R. Br.) from kupang-east nusa tenggara by the use DPPH (1, 1-difenyl-2-picrylhydrazyl) free radical method. *Proceeding 1st. International Conference Health Polytechnic of Kupang*,

- Susanti, N. M. P., Dewi, L. P. M. K., Manurung, H. S., & Wirasuta, I. M. A. G. (2017). Identifikasi Senyawa Golongan Fenol dari Ekstrak Etanol Daun Sirih Hijau (*Piper Betle Linn.*) dengan Metode Klt-Spektrofotodensitometri. *Metamorfosa: Journal of Biological Sciences*, 4(1), 108-113. <https://doi.org/10.24843/metamorfosa.2017.v04.i01.p16>
- Tenda, P. E., Lenggu, M. Y., & Ngale, M. S. (2017). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Kulit Pohon Faloak (*Sterculia sp.*) Terhadap Bakteri Staphylococcus Aureus. *Jurnal Info Kesehatan*, 15(1), 227-239. <https://doi.org/10.31965/infokes.v15i1.143>
- Werdhasari, A. (2014). Peran antioksidan bagi kesehatan. *Jurnal Biotek Medisiana Indonesia*, 3(2), 59-68. <https://doi.org/10.22435/jbmi.v3i2.1659>
- Zeb, A. (2020). Concept, mechanism, and applications of phenolic antioxidants in foods. *Journal of Food Biochemistry*, 44(9), e13394. <https://doi.org/10.1111/jfbc.13394>