



Indo. J. Chem. Sci. 11 (2) (2022)

Indonesian Journal of Chemical Science

<http://journal.unnes.ac.id/sju/index.php/ijcs>

## Isolation and Identification of Flavonoid Compounds from Mahogany Leaves (*Swietenia mahagoni*) and Their Antioxidant Activity with the DPPH Method

Beni Safrudin, Sri Mursiti ✉

Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Semarang Gedung D6 Lantai 2, Kampus Sekaran, Gunungpati, Semarang 50229, Indonesia

### Info Artikel

Diterima Januari 2022

Disetujui Maret 2022

Dipublikasikan Agustus 2022

#### Keywords:

Isolation

Flavonoid

Mahogany leaves

Antioxidant

### Abstrak

Daun mahoni (*Swietenia mahagoni*) mengandung senyawa yang bersifat antioksidan seperti alkaloid, flavonoid, steroid, terpenoid, dan tanin. Penelitian ini bertujuan menganalisis jenis senyawa flavonoid dan kekuatan  $IC_{50}$  pada daun mahoni (*Swietenia mahagoni*). Variabel bebas dalam penelitian ini yaitu jenis sampel dan konsentrasi pada uji antioksidan. Variabel kontrol yang digunakan yaitu volume pelarut dan waktu ekstraksi. Sedangkan variabel terikatnya yaitu nilai  $IC_{50}$ . Metode isolasi yang digunakan yaitu ekstraksi maserasi, partisi, KLT, serta pemisahan menggunakan kromatografi kolom. Sampel dikarakterisasi menggunakan GC, FT-IR, dan UV-Vis. Adanya flavonoid dibuktikan menggunakan FT-IR dimana terdapat serapan gugus fungsi OH, CH alifatik, C=O, C=C aromatik, C-O, dan CH aromatik. Spektrofotometer UV-Vis menunjukkan serapan dengan panjang gelombang maksimum bernilai 230 pada pita 2 dan 408 pada pita 1. Hal ini diduga bahwa senyawa flavonoid yang diisolasi adalah flavonoid jenis Auron. Besarnya  $IC_{50}$  pada ekstrak metanol sebesar 48,07 ppm pada variasi konsentrasi (45,83; 62,50; 79,16) ppm, fraksi etil asetat sebesar 38,26 ppm pada variasi konsentrasi (12,50; 45,83; 79,16) ppm, isolat positif flavonoid daun mahoni (*Swietenia mahagoni*) sebesar 70,00 ppm pada variasi konsentrasi (75,00; 100,00; 125,00) ppm, dan kuersetin sebesar 30,384 ppm pada variasi konsentrasi (45,83; 50,00; 66,67) ppm.

### Abstract

Mahogany leaves (*Swietenia mahagoni*) contain antioxidant compounds such as alkaloid, flavonoid, steroid, terpenoids, and tannin. This study aims to analyze the types of flavonoid compounds and the strength of  $IC_{50}$  in mahogany leaves (*Swietenia mahagoni*). The independent variables in this study were the type of sample and the concentration in the antioxidant test. The control variables used are solvent volume and extraction time. While the dependent variable is the  $IC_{50}$  value. The isolation methods used were maceration extraction, partitioning, TLC, and separation using column chromatography. Samples were characterized using GC, FT-IR, and UV-Vis. The presence of flavonoids was proven by using the FT-IR instrument where there was the absorption of the functional groups OH, aliphatic CH, C=O, C=C aromatic, C-O, and CH aromatics. UV-Vis spectrophotometer showed absorption with a maximum wavelength of 230 in band 2 and 408 in band 1. It can be assumed that the isolated flavonoid compound was an Auron-type flavonoid. The  $IC_{50}$  in the methanol extract was 48.07 ppm at various concentration (45.83; 62.50; 79.16) ppm, the ethyl acetate fraction was 38.26 ppm at various concentration (12.50; 45.83; 79, 16) ppm, positive isolates of flavonoid mahogany (*Swietenia mahagoni*) 70.00 ppm at various concentration (75.00; 100.00; 125.00) ppm, and quercetin 30.384 ppm at various concentration (45.83; 50.00 ; 66.67) ppm.

© 2022 Universitas Negeri Semarang

✉ Alamat korespondensi:

Gedung D6 Lantai 2 Kampus Sekaran, Gunungpati, Semarang 50229

E-mail: [srimursiti@mail.unnes.ac.id](mailto:srimursiti@mail.unnes.ac.id)

p-ISSN 2252-6951

e-ISSN 2502-6844

## Pendahuluan

Radikal bebas merupakan agen penyakit dengan menyerang sel-sel pada tubuh. Radikal bebas ini berbentuk molekul berelektron tidak berpasangan yang dapat mengambil elektron seperti pada protein dan karbohidrat sehingga bersifat merugikan (Liochev, 2013). Beberapa sumber radikal bebas yaitu sinar UV, asap rokok, serta zat kimia dalam makanan (Werddhasari, 2014). Radikal bebas dapat dicegah dengan suatu antioksidan (Hapsari, 2017).

Antioksidan memiliki mekanisme kerja dengan menghambat suatu reaksi oksidasi. Antioksidan menghentikan reaksi rantai yang disebabkan oleh radikal bebas. Contoh antioksidan yaitu tiol, asam askorbat, dan polifenol (Youssef, 2015). Jika terdapat penumpukan radikal bebas dalam tubuh, maka tubuh perlu asupan antioksidan yang berasal dari makanan maupun obat-obatan (Werddhasari, 2014).

Flavonoid merupakan salah satu senyawa yang melimpah dan juga sebagai sumber antioksidan. Senyawa ini hampir terdapat pada semua bagian tumbuhan seperti bunga, buah, dan daun (Alfaridz *et al.*, 2015). Wang *et al.*, (2016) menunjukkan bahwa terdapat senyawa flavonoid pada tanaman *Artemisia frigida Willd* yang berfungsi sebagai antioksidan dan antiinflamasi. Menurut Wong *et al.*, (2016) bahwa pada tanaman mahoni (*Swietenia mahagoni*) memiliki senyawa flavonoid dimana mampu menghambat *xantine oxidase* (XO).

Uji antioksidan dapat dilakukan dengan beberapa cara, diantaranya yaitu dengan reagen 2,2-azino-bis (*3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid*) (ABTS), 2,2-difenil-1-pikrihidrazil (DPPH), *oxygen radical absorbance capacity* (ORAC), *ferric reducing antioxidant power* (FRAP), *superoxide dismutase* (SOD). Penelitian ini menggunakan metode DPPH (2,2 difenil-1-pikrihidrazil) (Ma *et al.*, 2016). Metode ini digunakan karena memiliki kinerja yang efektif pada peranya sebagai antioksidan (Putri, 2016).

Penelitian yang telah dilakukan sebelumnya menyatakan bahwa pada daun mahoni (*Swietenia mahagoni*) terdapat senyawa flavonoid dan limonoid (Lina *et al.*, 2016). Lebih lanjut, pada daun mahoni (*Swietenia mahagoni*) juga terdapat senyawa asam fenolat, flavanol, 2-flaffanol glikosida, serta 2-flavanol aglikon (Mousa *et al.*, 2015). Berdasarkan hal tersebut, penelitian ini dilakukan untuk mengisolasi senyawa flavonoid dari daun mahoni (*Swietenia mahagoni*) serta uji aktivitasnya sebagai antioksidan.

## Metode

### Alat dan Bahan

Alat yang dibutuhkan yaitu neraca analitik, gelas arloji, spatula, gelas ukur, pipet tetes, penguap vakum putar, kertas saring, blender, tabung reaksi, pembakar spiritus, kassa, kaki 3, sonikator, kromatografi kolom, statif dan klem, corong pisah, stirer, *hot plate*, toples, spatula, corong gelas, pelat kromatografi lapis tipis (KLT), kromatografi kolom, pipa kapiler, lampu UV, labu ukur, chamber, pinset, Spektrofotometer UV-Vis FLOUStar Omega Microplate, FT-IR PerkinElmer (Version 10.03.06), GC (Agilent 6820 Version A.01.03). Bahan-bahannya yaitu 3 kg daun mahoni (*Swietenia mahagoni*), aquades, metanol teknis, etil asetat teknis, metanol pa, etil asetat pa, HCl pa, FeCl<sub>3</sub>, serbuk Mg, n-heksan teknis, kristal DPPH, kuersetin, silika gel, n-butanol teknis, asam asetat teknis, kloroform pa, etanol teknis, alumunium foil, etanol 70%, larutan AlCl<sub>3</sub>.

### Prosedur Kerja

Pertama yaitu membuat simplisia dari daun mahoni (*Swietenia mahagoni*) dengan dihaluskan. Kemudian dilakukan skrining fitokimia meliputi uji flavonoid, alkaloid, saponin, terpenoid, steroid, dan fenolik. Serbuk daun mahoni dimaserasi menggunakan pelarut metanol selama 72 jam. Ekstrak yang dihasilkan dimasukkan ke dalam *rotary evaporator* sehingga dihasilkan ekstrak kental metanol. Sampel dianalisis dengan menggunakan instrumen FT-IR. Setelah itu, sampel dipartisi dengan pelarut etil asetat dan air dengan perbandingan 1:1. Fase yang diambil yaitu fase etil asetat (Mursiti & Supartono, 2017).

Fraksi etil asetat diuji kandungan flavonoidnya dengan metode Wilsater, reagen NaOH, reagen AlCl<sub>3</sub>. Pemisahan dilakukan dengan menggunakan kromatografi kolom. Fase diam yang digunakan yaitu silika GF<sub>254</sub>. Sedangkan fase geraknya yaitu campuran antara pelarut n-heksan dan etil asetat dengan perbandingan 6:4. Bubur silika dibuat dengan melarutkan silika gel. Kemudian dibiarkan semalaman sampai memadat dan tidak terdapat gas oksigen (Oladeji, 2016). Sampel dimasukkan ke dalam kolom dan tunggu sampai turun kebawah. Setelah itu, sampel dielus dalam vial 15 ml. Fraksi hasil pemisahan menggunakan kromatografi kolom diuji dengan KLT beserta penggambaran noda pada lampu UV  $\lambda$  254

nm dan 365 nm (Nuari dkk, 2017 ; Andersen dan Markam, 2005). Isolat positif flavonoid dikarakterisasi menggunakan UV-Vis, FT-IR, dan GC.

Uji antioksidan dilakukan dengan melakukan optimasi panjang gelombang maksimum DPPH. Panjang gelombang yang digunakan berkisar dari 200-600 nm. Larutan induk sampel dan DPPH dibuat dengan konsentrasi 100 ppm. Kemudian pada larutan kuersetin diencerkan menjadi 45,83; 50,00; 66,67 ppm, pada ekstrak metanol diencerkan menjadi 45,83; 62,50; 79,17 ppm, pada fraksi etil asetat diencerkan menjadi 12,50; 45,83; 79,17, dan pada isolat positif flavonoid diencerkan menjadi 75,00 ; 100,00 ; 125,00 ppm. Sampel diinkubasi selama 30 menit. Perhitungan antioksidan ditentukan dengan menghitung *Inhibition Concentration 50%* (IC<sub>50</sub>) (Ekawati *et al.*, 2017).

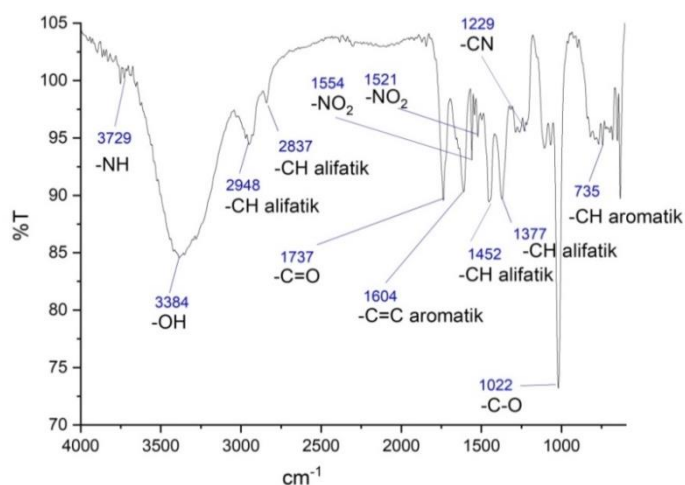
## Hasil dan Pembahasan

Daun mahoni (*Swietenia mahagoni*) didapatkan di Kelurahan Ngijo, Kecamatan Gunungpati, Kota Semarang, Provinsi Jawa Tengah. Daun mahoni (*Swietenia mahagoni*) yang telah dikumpulkan kemudian dicuci dengan air, ditiriskan, dan diangin-anginkan tanpa terkena cahaya matahari secara langsung agar senyawa yang terkandung didalamnya tidak rusak. Sampel yang telah kering kemudian diblender sampai halus. Setelah itu, sampel diayak agar luas permukaannya bertambah sehingga senyawa aktif yang berada didalamnya mudah larut dalam pelarut (Antari *et al.*, 2015).

Kadar air sampel yang dihasilkan sebesar 10,4%. Kadar air pada simplisia disebut baik apabila kurang dari 10% karena pada nilai ini mikroorganisme tidak tumbuh dengan cepat (Refli, 2012). Hal ini menandakan bahwa simplisia daun mahoni (*Swietenia mahagoni*) dikatakan hampir memenuhi standar yang berlaku sehingga sampel dapat disimpan dalam waktu yang relatif lama. Beberapa faktor yang menyebabkan tidak memenuhinya standar kadar air diantaranya ukuran partikel terlalu halus dan penyimpanan di tempat yang lembab. Semakin halus maka semakin besar sampel menyerap air (Priyanto *et al.*, 2018). Sampel disimpan di ruangan yang lembab menyebabkan kandungan air pada sampel meningkat (Wulandari, 2017).

Senyawa fitokimia pada tumbuhan memiliki kandungan yang berbeda-beda tergantung pada varietas, cara mengolah dan menyimpan, musim, dan spesies (Pyo *et al.*, 2014). Pada uji fitokimia menunjukkan bahwa serbuk daun mahoni (*Swietenia mahagoni*) mengandung senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, steroid, terpenoid, tanin, flavanoid, dan fenolik.

Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini yaitu maserasi menggunakan metanol. Menurut Atun (2014) bahwa metanol merupakan pelarut yang memiliki titik didih yang rendah sehingga cocok untuk mengekstrak senyawa yang tidak tahan panas. Selain itu, penelitian Verdiana *et al.*, (2018) menunjukkan bahwa senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid dapat tertarik pada pelarut metanol. Waktu perendaman selama 3 x 24 jam. Filtrat diuapkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu dibawah 40°C. Pada penguapan ini dihasilkan rendemen sebanyak 18,26 %. Rendemen yang dihasilkan > 10% sehingga bisa dibilang proses ekstraksi sudah optimal (Rachman *et al.*, 2018).



Gambar 1. Spektrum IR ekstrak metanol daun mahoni (*Swietenia mahagoni*)

**Tabel 1.** Bilangan gelombang spektrum IR ekstrak metanol daun mahoni (*Swietenia mahagoni*)

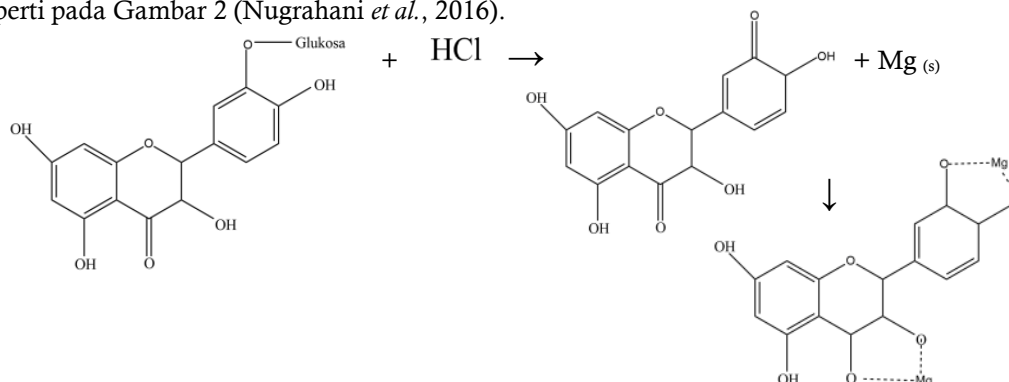
No	Bilangan Gelombang (cm <sup>-1</sup> )		Bentuk Pita	Kemungkinan Gugus Fungsi
	Pada Spektra	Pada Pustaka*		
1	3729	3000-3750	Tajam	-NH
2	3384	3500-3000	Melebar	-OH
3	2948	2950-2800	Tajam	-CH alifatik
	2837			
4	1737	1850-1730	Tajam	-C=O
5	1604	1650-1400	Tajam	-C=C aromatik
6	1554	1570-1490	Tajam	-NO <sub>2</sub>
	1521			
7	1452	1340-1470	Tajam	-CH alifatik
	1377			
8	1229	1180-1360	Tajam	-CN
9	1022	1300-1000	Tajam	-C-O alkohol
10	735	690-900	Tajam	-CH aromatik

\*Sumber: Sastrohamidjojo (1997); Dukomalamo & Sangi (2016); Ardiyanti (2017); Damayanti *et al.*, (2021); Hasmila *et al.*, (2019)

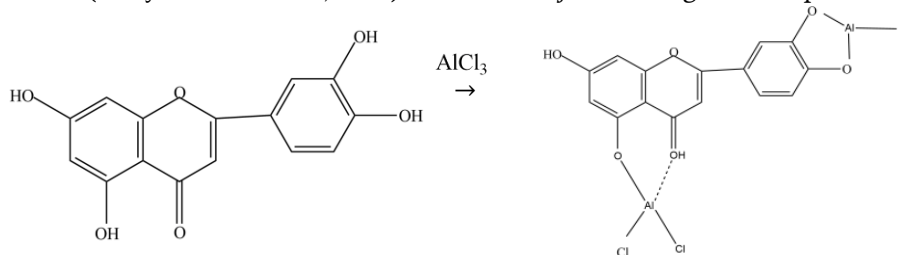
Pada analisis spektrum IR pada Gambar 1 dan Tabel 1 menunjukkan bahwa ada beberapa gugus fungsi. Pada bilangan gelombang 3729 cm<sup>-1</sup> dengan serapan melebar terdapat gugus N-H. Pada bilangan gelombang 3384 cm<sup>-1</sup> dengan serapan melebar terdapat gugus O-H. Serapan tajam C-H alifatik pada bilangan gelombang 2948 cm<sup>-1</sup> dan 2837 cm<sup>-1</sup>. Serapan gugus karbonil atau keton (C=O) sebagai ciri umum senyawa flavonoid muncul pada bilangan gelombang 1737 cm<sup>-1</sup>. Serapan C=C aromatik pada bilangan gelombang 1602 cm<sup>-1</sup>. Serapan NO<sub>2</sub> terdapat pada bilangan gelombang 1554 cm<sup>-1</sup> dan 1521 cm<sup>-1</sup>. Pada bilangan gelombang 1452 cm<sup>-1</sup> dan 1377 cm<sup>-1</sup> dengan serapan tajam terdapat gugus C-H alifatik. Serapan amida (CN) pada bilangan gelombang 1229 cm<sup>-1</sup>. Pada bilangan gelombang 1022 cm<sup>-1</sup> dengan serapan tajam terdapat gugus C-O alifatik. Pada bilangan gelombang 735 cm<sup>-1</sup> dengan serapan tajam terdapat gugus C-H aromatik. Berdasarkan data spektrum IR tersebut dapat diketahui bahwa ekstrak kental metanol daun mahoni (*Swietenia mahagoni*) dihipotesiskan mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, terpenoid, steroid, serta tanin.

Ekstrak metanol partisi dengan air dan etil asetat dengan perbandingan 1:1. Pada corong pisah dihasilkan 2 lapisan larutan yaitu lapisan air dan lapisan etil asetat dimana lapisan air yang berada di bagian bawah karena memiliki massa jenis yang lebih tinggi daripada lapisan etil asetat. Jumlah larutan yang dihasilkan yaitu 72,837 gram fraksi air dan 77,163 gram fraksi etil asetat. Lapisan yang diambil yaitu lapisan etil asetat yang bersifat semipolar. Markham (1988) menyatakan bahwa flavonoid aglikon seperti isoflavan, flavanon, auron, flavon, serta flavonol yang termetoksilasi cenderung lebih larut dalam pelarut yang semi polar seperti eter, kloroform, etil asetat, dan n-butanol.

Fraksi etil asetat daun mahoni positif memiliki kandungan senyawa flavonoid. Hal ini dibuktikan dengan beberapa uji yang dilakukan yaitu tes Wilstater, tes dengan reagen AlCl<sub>3</sub>, dan tes NaOH. Pada tes Wilstater, perubahan positif ditandai dengan berubahnya warna sampel menjadi merah atau jingga (Dewi, 2020). Fungsi penambahan HCl adalah agar terjadi reaksi redoks antara senyawa flavonoid dan logam Mg seperti pada Gambar 2 (Nugrahani *et al.*, 2016).

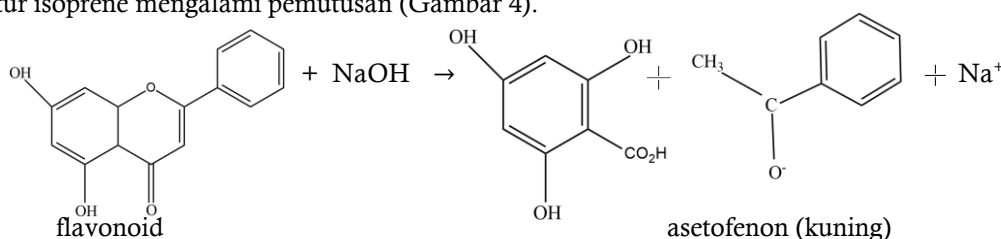
**Gambar 2.** Reaksi flavonoid dengan reagen HCl dan serbuk Mg

Pada tes dengan reagen  $\text{AlCl}_3$  terjadi perubahan warna menjadi kuning menunjukkan adanya flavonoid. Warna kuning disebabkan oleh pembentukan kompleks gugus keto dan gugus hidroksi dengan aluminium klorida (Mulyani & Laksana, 2011). Hal ini ditunjukkan dengan reaksi pada Gambar 3.



**Gambar 3.** Reaksi flavonoid dengan reagen  $\text{AlCl}_3$

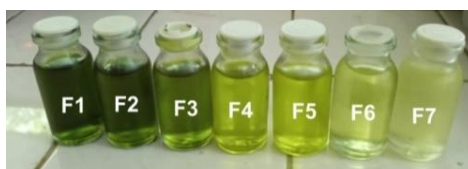
Pada tes dengan reagen  $\text{NaOH}$  terjadi perubahan warna dari hijau menjadi kuning. Warna kuning ini menandakan adanya senyawa flavonoid dimana terjadi proses penguraian senyawa oleh basa sehingga terbentuk senyawa yang berwarna kuning yaitu asetofenon (Lindawati & Ma'ruf, 2020). Pada reaksi ini struktur isoprene mengalami pemutusan (Gambar 4).



**Gambar 4.** Reaksi flavonoid dengan reagen  $\text{NaOH}$

Fraksi etil asetat daun mahoni (*Swietenia mahagoni*) dipisahkan senyawanya menggunakan KLT. Tujuannya agar didapatkan fase gerak yang terbaik yang ditandai dengan terbentuknya banyak noda. Metode ini digunakan karena sederhana, operasinya mudah, pelarut yang dibutuhkan sedikit, serta ekonomis. Fase diam yang digunakan yaitu plat silika gel  $\text{GF}_{254}$ . Dari beberapa pelarut yang digunakan, pelarut n-heksan : etil asetat (6:4) memiliki jumlah noda yang paling banyak serta berpisah dengan baik. Hal ini karena terdapat noda berjumlah 10 dengan warna yang bervariasi seperti biru, merah, dan cokelat. Selain itu, antara noda satu dengan yang lainnya dapat terpisah dengan baik. Hal ini sesuai penelitian Sutomo *et al.*, (2021) bahwa dalam pemisahan menggunakan KLT pada pelarut n-heksan : etil asetat (6:4) memiliki noda yang terpisah dengan baik.

Fraksi etil asetat yang telah ditimbang diencerkan menggunakan pelarut agar mudah dimasukkan ke dalam kromatografi kolom. Sampel dimasukan secara perlahan pada dinding kolom menggunakan pipet. Kolom dibiarkan beberapa saat sampai sampel benar benar turun ke bagian bawah kolom. Setelah sampel mencapai bagian bawah kolom maka elusi dilakukan dengan kecepatan 20 tetes per menit. Senyawa dengan sifat nonpolar akan lebih dulu terelusi. Hal ini karena senyawa yang bersifat polar tertahan pada fase diam silika gel. Pada silika gel terdapat gugus silanol dimana dapat membentuk ikatan hidrogen dengan senyawa pada sampel. Silika gel bersifat polar (Anggraini, 2018). Eluat ditampung menggunakan botol vial 15 ml. Pada penelitian ini dihasilkan 7 fraksi hasil elusi menggunakan kromatografi kolom. Warna eluat dari vial pertama sampai terakhir terlihat bergradasi dari warna hijau ke kuning sampai ke warna bening (Gambar 5).



**Gambar 5.** Fraksi hasil elusi menggunakan kromatografi kolom

Pada tahap ini digunakan pelarut terbaik pada KLT analitik yaitu n-heksan : etil asetat (6:4). Fraksi hasil kromatografi kolom diuji menggunakan KLT. Pemurnian bertujuan untuk mengetahui apakah senyawa yang terdapat pada isolat bersifat murni dengan ditandai noda tunggal pada plat KLT. Hasil

identifikasi menunjukkan bahwa isolat F6 bersifat murni. Hal ini dibuktikan dengan munculnya noda tunggal dengan warna merah jingga saat disinari lampu UV 366 (Gambar 6). Menurut Adiwijaya (2011) bahwa isolat disebut murni jika pada plat KLT menunjukkan noda tunggal.



**Gambar 6.** Identifikasi fraksi kromatografi kolom F6 menggunakan KLT

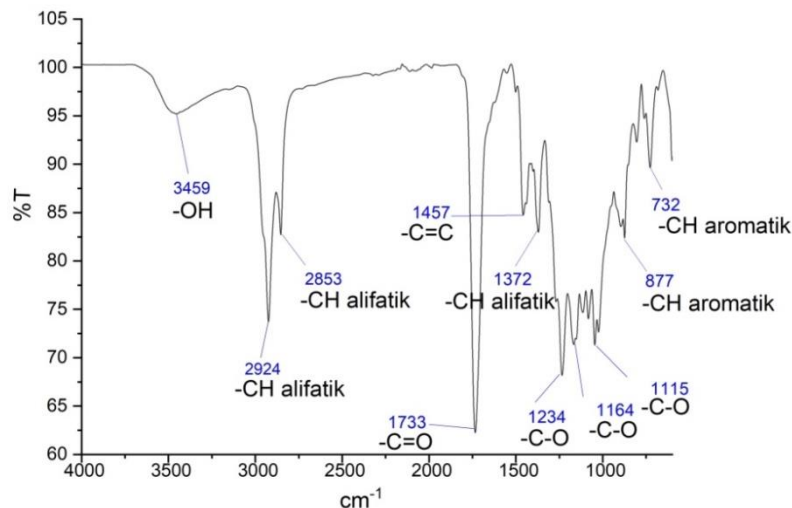
Kemudian dilakukan pembuktian bahwa sampel mengandung flavonoid. Uji dilakukan dengan tes Wilstater dan NaOH. Hasilnya yaitu isolat F6 positif mengandung flavonoid. Hal ini dibuktikan pada tes Wilstater terjadi perubahan warna dari hijau menjadi kuning kecoklatan. Kemudian pada tes menggunakan reagen NaOH terjadi perubahan warna dari hijau menjadi hijau kekuningan.

**Tabel 2.** Waktu retensi dan area isolat positif flavonoid pada GC (*Gas Chromatography*)

Waktu retensi (menit)	Area (%)
2,187	1,54753
2,234	0,84961
2,452	0,07480
2,621	97,52805

Berdasarkan Tabel 2 bahwa hasil identifikasi menggunakan instrumen GC (*Gas Chromatography*) menunjukkan ada 4 puncak senyawa dengan waktu retensi yang bervariasi. Dapat diambil kesimpulan bahwa isolat positif flavonoid sudah mendekati murni karena puncak yang terdapat pada analisis menggunakan GC (*Gas Chromatography*) berjumlah sedikit.

Isolat positif flavonoid yang dihasilkan dari proses kromatografi kolom dilakukan pengukuran menggunakan spektrum IR. Tujuannya yaitu untuk mengetahui gugus fungsi yang terdapat pada sampel.



**Gambar 7.** Spektrum IR isolat positif flavonoid daun mahoni (*Swietenia mahagoni*)

Pada analisis spektrum FT-IR pada Gambar 7 menunjukkan bahwa ada beberapa gugus fungsi. Pada bilangan gelombang  $3459\text{ cm}^{-1}$  dengan serapan melebar terdapat gugus O-H. Serapan tajam C-H alifatik pada bilangan gelombang  $2924\text{ cm}^{-1}$  dan  $2853\text{ cm}^{-1}$ . Serapan tajam gugus karbonil atau keton ( $\text{C}=\text{O}$ )

sebagai ciri umum senyawa flavonoid muncul pada bilangan gelombang 1733  $\text{cm}^{-1}$ . Serapan tajam C=C aromatik pada bilangan gelombang 1457  $\text{cm}^{-1}$ . Serapan tajam C-H alifatik pada bilangan gelombang 1372  $\text{cm}^{-1}$ . Serapan tajam C-O alkohol pada bilangan gelombang 1234  $\text{cm}^{-1}$ , 1164  $\text{cm}^{-1}$ , 1115  $\text{cm}^{-1}$ . Serapan tajam CH aromatik pada bilangan gelombang 732  $\text{cm}^{-1}$  dan 877  $\text{cm}^{-1}$ .

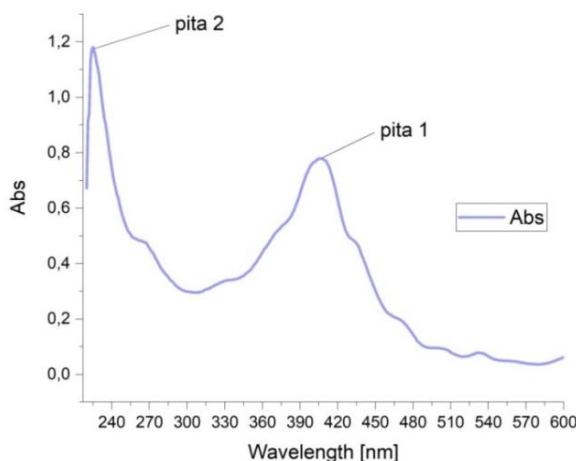
**Tabel 3.** Bilangan gelombang spektrum IR isolat positif flavonoid daun mahoni (*Swietenia mahagoni*)

No	Bilangan Gelombang ( $\text{cm}^{-1}$ )		Bentuk Pita	Kemungkinan Gugus Fungsi
	Pada Spektra	Pada Pustaka*		
1	3459	3500-3000	Melebar	-OH
2	2924	2950-2800	Tajam	-CH alifatik
	2853			
3	1733	1850-1730	Tajam	-C=O
4	1457	1650-1400	Tajam	-C=C aromatik
5	1372	1495-1300	Tajam	-CH alifatik
	1234			
6	1164	1300-1000	Tajam	-C-O alkohol
	1115			
7	877	690-900	Tajam	-CH aromatik
	732			

\*Sumber: Sastrohamidjojo (1997); Dukomalamo *et al.*, (2016); (Ardiyanti, 2017)

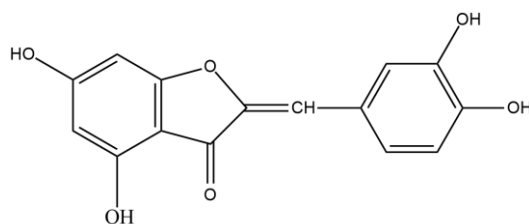
Hasil spektrum FT-IR pada penelitian ini (Tabel 3) juga sesuai dengan penelitian yang dilakukan Feliana *et al.*, (2018) dimana pada biji alpukat (*Persea americana Mill.*) terdapat senyawa flavonoid dengan gugus fungsi OH, C-H alifatik, C=O, C=C aromatik, dan C-O. Kemudian penelitian yang dilakukan Syahril *et al.*, (2015) dimana pada daun pecut kuda (*Stachytarpheta jamaicensis*) terdapat senyawa flavonoid dengan gugus fungsi OH, C-H alifatik, C=O, C=C aromatik, C-O, dan C-H aromatik.

Isolat positif flavonoid yang dihasilkan dari proses kromatografi kolom dilakukan pengukuran panjang gelombangnya dengan alat spektrofotometer UV-Vis. Panjang gelombang yang digunakan yaitu 220 – 450 nm.



**Gambar 8.** Spektrum UV-Vis isolat positif flavonoid daun mahoni (*Swietenia mahagoni*)

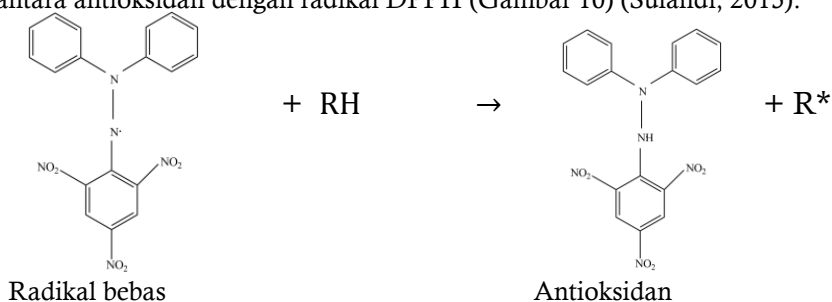
Gambar 8 menunjukkan bahwa serapan dengan panjang gelombang maksimum bernilai 230 pada pita 2 dan 408 pada pita 1 sehingga diduga bahwa senyawa utama yang terdapat pada isolat adalah flavonoid jenis Auron. Pada penelitian Rissanti *et al.*, (2014) juga menyebutkan bahwa senyawa Auron terdapat pada panjang gelombang maksimum 260,5 pada pita 2 dan 421,5 pada pita 1. Struktur senyawa Auron (Gambar 9) memiliki kesamaan dengan hasil FT-IR dimana pada isolat positif flavonoid memiliki gugus fungsi O-H, C-H alifatik, C=O, C=C aromatik, C-O alkohol, C-H aromatik.



**Gambar 9.** Struktur Auron

Awalnya, larutan DPPH dibuat sebesar 100 ppm dengan pelarut metanol. Penggunaan pelarut metanol dikarenakan senyawa DPPH stabil pada pelarut metanol. Warna larutan DPPH yaitu ungu kehitaman. Larutan disimpan dalam vial dengan diberi aluminium foil agar senyawa DPPH tidak rusak. Hal ini karena senyawa DPPH rentan rusak jika terkena cahaya matahari. Kemudian, mencari panjang gelombang maksimum dari larutan blanko DPPH. Fungsi blanko yaitu untuk mengetahui konsentrasi radikal bebas larutan DPPH sebelum penambahan sampel. Nilai absorbansi ini digunakan sebagai pengurang dari larutan DPPH setelah penambahan sampel (Sulandi, 2013). Pengukuran panjang gelombang maksimum dilakukan pada instrumen spektrofotometer UV-Vis. Panjang gelombang maksimum yang dihasilkan yaitu 328 nm dengan absorbansi maksimum 0,952.

Selanjutnya, larutan sampel terdiri dari ekstrak metanol, fraksi etil asetat, dan isolat positif flavonoid. Larutan ini dibuat dengan konsentrasi tertentu agar mengetahui nilai dari % inhibisi. Sampel diinkubasi dalam ruangan yang gelap selama 30 menit (Gusungi *et al.*, 2020). Hal ini bertujuan agar terjadi kontak secara optimal antara zat dengan DPPH. Ketika larutan sampel diberi larutan DPPH maka terjadi penurunan absorbansi dari larutan DPPH. Hukum Lambert Beer menyatakan bahwa semakin tinggi konsentrasi maka semakin tinggi pula absorbansi spektrum cahaya. Absorbansi menurun berarti konsentrasi larutan DPPH menurun ditandai dengan memudarnya warna ungu kehitaman. Hal ini disebabkan terjadinya reaksi antara antioksidan dengan radikal DPPH (Gambar 10) (Sulandi, 2013).



**Gambar 10.** Mekanisme peredaman radikal bebas oleh flavonoid

**Tabel 4.** Hasil persamaan regresi linier dan hasil analisis  $IC_{50}$  yang diperoleh dari ekstrak metanol, fraksi etil asetat, dan isolat positif flavonoid daun mahoni (*Swietenia mahagoni*)

Larutan Uji	Persamaan Regresi	$R^2$	$IC_{50}$ (ppm)
Ekstrak metanol	$Y = 0,5603x + 23,066$	$R^2 = 0,9996$	48,07
Fraksi etil asetat	$Y = 0,9971x + 11,845$	$R^2 = 0,9984$	38,27
Isolat flavonoid	$Y = 1,0857x - 45$	$R^2 = 1$	70,00
Kuersetin	$Y = 1,1624x + 14,681$	$R^2 = 0,999$	30,39

5. Kemudian nilai antioksidan sampel dibandingkan dengan nilai antioksidan pada referensi pada Tabel

**Tabel 5.** Kategori nilai  $IC_{50}$  sebagai antioksidan (Sibuea, 2017)

No.	Kategori	Konsentrasi (ppm)
1.	Sangat kuat	<50
2.	Kuat	50 – 100
3.	Sedang	101 – 150
4.	Lemah	151 – 200



Berdasarkan Tabel 5 bahwa sampel ekstrak metanol, ekstrak etil asetat, dan kuersetin memiliki nilai IC<sub>50</sub> kategori sangat kuat. Sedangkan sampel isolat positif flavonoid memiliki nilai IC<sub>50</sub> kategori kuat.

### Simpulan

Pada daun mahoni (*Swietenia mahagoni*) diduga terdapat senyawa flavonoid jenis Auron. Besarnya IC<sub>50</sub> pada ekstrak metanol sebesar 48,07 ppm pada variasi konsentrasi (45,83; 62,50; 79,17) ppm, fraksi etil asetat sebesar 38,27 ppm pada variasi konsentrasi (12,50; 45,83; 79,17) ppm, isolat positif flavonoid daun mahoni (*Swietenia mahagoni*) sebesar 70,00 ppm pada variasi konsentrasi (75,00; 100,00; 125,00) ppm, dan kuersetin sebesar 30,38 ppm pada variasi konsentrasi (45,83; 50,00; 66,67) ppm.

### Daftar Pustaka

- Adiwijaya, Mohammad. 2011. Isolasi Senyawa Golongan Triterpenoid dari Ekstrak n-heksana Umbi Bidara Upas. *Skripsi*. Surabaya: Fakultas Farmasi UNAIR.
- Alfaridz, F., Amalia, R., Farmasi, F., Padjadjaran, U. & Barat, J. 2015. Klasifikasi dan aktivitas farmakologi dari senyawa aktif flavonoid. *Farmaka*, 16(3): 1–9. DOI : <https://doi.org/10.24198/jf.v16i3.17283>
- Anggraini, V. 2018. Uji toksisitas isolat steroid hasil kromatografi kolom dengan variasi gradien eluen fraksi etil asetat makroalga *Eucheuma cottoni*. *Skripsi*. UIN Maulana Malik Ibrahim.
- Antari, N.M.R., Wartini, N., & Mulyani, S. 2015. Pengaruh ukuran partikel dan lama ekstraksi terhadap karakteristik ekstrak warna alami buah pandan (*Pandanus tectorius*). *Jurnal rekayasa dan manajemen agroindustri*, 3(4): 30–40.
- Ardiyanti, M. 2017. Pengaruh proporsi pelarut dan lama waktu ekstraksi berbantu ultrasonik dibandingkan maserasi terhadap saponin biji mahoni (*Swietenia mahagoni* Jacq). *Skripsi*. Universitas Brawijaya.
- Atun, S. 2014. *Metode isolasi dan identifikasi struktur senyawa organik bahan alam*.
- Damayanti, A., Ilyas, A. & Firmanely 2021. Senyawa golongan alkaloid dari ekstrak etanol spons *Stylotella* sp. asal Kepulauan Selayar. *Journal of chemistry*, 8(2): 1–4.
- Dewi, N.W.O.A.. 2020. Uji aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol kulit, daging, dan biji terong Belanda (*Solanum Betaceum Cav*). *Prosiding Webinar Nasional Pendidikan dan Sains Kimia*. Hal. 117–120.
- Dukomalamo, I., Sangi, M.S. & Rorong, J.. 2016. Analisis Senyawa Toksik Tepung Pelepah Batang Aren (*Arenga pinnata*) dengan Spektroskopi UV-Vis dan Inframerah. *Jurnal MIPA UNSRAT Online*, 5(1): 54–59.
- Ekawati, M., Sutirta, I., & Santi, S.. 2017. Isolasi dan identifikasi senyawa flavonoid pada daun Sembukan (*Paederia foetida L*) serta uji aktivitasnya sebagai antioksidan. *Jurnal Kimia (Journal of Chemistry)*, 11(1): 43-48.
- Feliana, K., Mursiti, S. & Harjono 2018. Indonesian Journal of Chemical Science Isolasi dan Elusidasi Senyawa Flavonoid dari Biji Alpukat (*Persea americana Mill.*). *Indonesian Journal of Chemical Science*, 7(2): 153-159.
- Gusungi, D.E., Maarisit, W., Hariyadi & Potalangi, N.O. 2020. Studi Aktivitas Antioksidan Dan Antikanker Payudara ( MCF-7 ) Ekstrak Etanol Daun Benalu Langsung *Dendrophthoe pentandra*. *Jurnal Biofarmasetikal Tropis*, 3(1): 166–174.
- Hapsari, A.M. 2017. Pengujian kandungan total fenol dan flavonoid serta antioksidan ekstrak etanol tempuyung. *Skripsi*. Fakultas Farmasi Universitas Sumatera Utara.
- Hasmila, I., Dania, M. & Herawati, N. 2019. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Etil Asetat Kulit Batang Mangrove Pedada (*Sonneratia caseolaris*). *Jurnal Chemica*, 93(2): 45–53.
- Lina, M.P., Tatiana, L.E., Jaime, A.P., ntilde ez, Karol, Z. & Benjam iacute n, A.R. 2016. Antioxidants from three *Swietenia* Species (*Meliaceae*). *Journal of Medicinal Plants Research*, 10(2): 8–17.
- Lindawati, N.Y. & Ma'rif, S. 2020. Penetapan kadar total flavonoid ekstrak etanol kacang merah (*Phaseolus vulgaris L.*) dengan metode kompleks kolorimetri secara spektrofotometri visibel. *Jurnal ilmiah Manuntung*, 6(1): 83–91.
- Liochev, S.I. 2013. Free Radical Biology and Medicine Reactive oxygen species and the free radical theory of aging. *Free Radical Biology and Medicine*, 1–4.

- Ma, L., Zhang, Z., Zhao, X. & Lu, H. 2016. Analytical Methods The rapid determination of total polyphenols content and antioxidant activity in *Dendrobium officinale* using near-infrared spectroscopy. *Analytical Methods*, 00: 1–6.
- Markham KR. 1988. Cara Mengidentifikasi Flavonoid. Bandung: ITB
- Mousa, O.M., Issa, M.Y., El-Askary, H.I., El Zalabani, M. & Sleem, A.A. 2015. Bioactive fractions and polyphenols of the ethanol extract of *Swietenia mahagoni* leaves. 4(5): 326–341.
- Mulyani, S. & Laksana, T. 2011. Analisis flavonoid dan tannin dengan metoda mikroskopi-mikrokimiawi. *Majalah Obat Tradisional*, 16(3): 109–114.
- Mursiti, S. & Supartono 2017. Isolation and Antimicrobial Activity of Flavonoid Compounds from Mahogany Seeds (*Swietenia macrophylla*, King). *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*. 172 012055. doi:10.1088/1757-899X/172/1/012055
- Nugrahani, R., Andayani, Y., Pascasarjana, P., Mataram, U. & Words, K. 2016. Akrining Fitokimia dari Ekstrak Buah Buncis (*Phaseolus vulgaris* L) dalam Sediaan Serbuk. *Jurnal penelitian pendidikan IPA*, 2(1). <https://doi.org/10.29303/jppipa.v2i1.38>
- Priyanto, A., Hantarum & Sudarno 2018. Pengaruh Variasi Ukuran Partikel Briket Terhadap Kerapatan, Kadar Air, dan Laju Pembakaran Pada Briket Kayu Sengon. *Seminar Nasional Sains dan Teknologi Terapan VI*. 541–546.
- Putri, S.M.N.P. 2016. Identifikasi dan uji antioksidan senyawa betasianin dari ekstrak buah Bit merah (*Beta vulgaris* L). *Skripsi*. Jurusan Kimia Universitas Negeri Semarang.
- Pyo, Y., Jin, Y. & Hwang, J. 2014. Comparison of the Effects of Blending and Juicing on the Phytochemicals Contents and Antioxidant Capacity of Typical Korean Kernel Fruit Juices. 19(June): 108–114.
- Rachman, A., Wardatun, S. & Weandarlina, I.Y. 2018. Isolasi dan identifikasi senyawa saponin ekstrak metanol daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis). *Jurnal Online Mahasiswa (JOM) Bidang Farmasi*, 1(1): 3–8.
- Refli, R. 2012. Potensi ekstrak daun Tin (*Ficus carica* L.) sebagai antioksidan dan aktivitas hambatnya terhadap proliferasi sel kanker HeLa. *Skripsi*. Institut Pertanian Bogor.
- Rissanti, I., Fachriyah, E. & Kusriani, D. 2014. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Aktif dari Ekstrak Aseton Rimpang Bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) sebagai Antioksidan. *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, 17(3): 75–79.
- Sastrohamidjojo H. 1997. Spektroskopi Inframerah. Yogyakarta: UGM.
- Sibuea, R. 2017. Aktivitas peredaman radikal bebas dan penentuan kandungan total flavonoid dari fraksi etil asetat daun bangun-bangun (*Plectranthus amboinicus* L.). *Skripsi*. Universitas Sumatra Utara.
- Sulandi, A. 2013. Aktivitas antioksidan ekstrak kloroform buah lakum (*Cayratia trifolia*) dengan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrihidrazil). *Naskah Publikasi*, Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura Pontianak.
- Sutomo, Kiptiah, M., Nurmaidah & Arnida 2021. Identifikasi potensi senyawa antioksidan dari fraksi etil asetat daun mundar (*Garcinia forbesii* King.) asal Kalimantan Selatan. *Prosiding Seminar Nasional Lingkungan Lahan Basah*.
- Syahril, A., Nurhayati, B., Hendri, I. 2015. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid dalam Ekstrak Metanol Daun Pecut Kuda. *Jurnal Pendidikan Kimia Universitas Negeri Gorontalo*, 3(1): 1-10
- Verdiana, M., Widarta, I.W.R. & Permana, I. 2018. Pengaruh Gelombang Ultrasonik Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Buah Lemon (*Citrus limon* (Linn.) Burm F.). *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan*, 7(4): 213–222.
- Wang, Q., Jin, J., Dai, N. & Han, N. 2016. Anti-inflammatory effects, nuclear magnetic resonance identification, and high-performance liquid chromatography isolation of the total flavonoids from *Artemisia frigida*. *Journal of Food and Drug Analysis*, (January): 4–10.
- Werdhasari, A. 2014. Peran Antioksidan Bagi Kesehatan. *Jurnal Biotek Medisiana Indonesia*. 3(2): 59-68
- Wong, Y.P., Ng, R.C., Chuah, S.P., Koh, R.Y., Pick, A. & Ling, K. 2016. Antioxidant and Xanthine Oxidase Inhibitory Activities of *Swietenia Macrophylla* and *Punica Granatum*. *International Conference on Biological, Environment and Food Engineering*. Bali.
- Wulandari, D.D. 2017. Analisa Kualitas Madu (Keasaman, Kadar Air, dan Kadar Gula Pereduksi) Berdasarkan Perbedaan Suhu Penyimpanan. *Jurnal Kimia Riset*, 2(1): 16.

Youssef, M.M. 2015. Methods for Determining the Antioxidant Activity : A Review Methods for Determining the Antioxidant Activity : A Review. *Alexandria Journal of Food Science and Technology*, 11(1): 31–42.