



Isolasi Senyawa Metabolit Sekunder dari Ekstrak Metanol Kulit Batang *Bauhinia semibifida* Roxb. dan Uji Aktivitas Antioksidan

Haiyul Fadhli*, Nur Fitria Rohmatul Ummah, Noveri Rahmawati

Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Riau, Pekanbaru, 28293

*Corresponding author: haiyulfadhli@stifar-riau.ac.id

DOI: 10.20961/alchemy.17.1.42268.132-139

Received 22 June 2020, Accepted 06 September 2020, Published 08 March 2021

Kata kunci:

antioksidan;
Bauhinia semibifida;
flavonoid;
IC₅₀.

ABSTRAK. Kulit batang *Bauhinia semibifida* Roxb. telah lama digunakan sebagai obat tradisional oleh masyarakat Melayu Lingga, Kepulauan Riau. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan menguji aktivitas antioksidan senyawa metabolit sekunder dari ekstrak metanol kulit batang *B. semibifida* Roxb. Tiga isolat murni berupa satu senyawa alkaloid (BR1) dan dua senyawa flavonoid (BR2 dan BR3) telah berhasil diisolasi dengan cara ekstraksi menggunakan metode maserasi dan dilanjutkan fraksinasi dengan metode kromatografi kolom. Uji aktivitas antioksidan dilakukan terhadap isolat dengan metode 2,2 difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH). Senyawa isolat BR1 menunjukkan IC₅₀ >1000 µg/mL dikategorikan tidak aktif sebagai antioksidan, sedangkan senyawa isolat BR2 dan BR3 menunjukkan IC₅₀ 2,92 µg/mL dan 4,39 µg/mL dikategorikan sangat kuat sebagai antioksidan jika dibandingkan dengan vitamin C sebagai kontrol. Berdasarkan evaluasi aktivitas antioksidan senyawa BR2 adalah senyawa pilihan yang dilanjutkan untuk diidentifikasi dengan spektroskopi *Fourier-Transform Infrared Spectroscopy* (FTIR) dan *Proton Nuclear Magnetic Resonance* (¹H-NMR). Hasilnya menunjukkan dugaan bahwa senyawa isolat memiliki struktur dasar senyawa flavonoid.

Keywords:

antioxidant;
Bauhinia semibifida;
flavonoid;
IC₅₀.

ABSTRACT. Isolation of Secondary Metabolite Compounds of Methanolic Extract of Steam Bark *Bauhinia semibifida* Roxb. and Their Antioxidant Activities. Stem bark of *Bauhinia semibifida* Roxb. has been long consumed as a medicinal herb by Lingga Malaya Ethnic. Therefore, this research aimed to isolate and examines the antioxidant activity of secondary metabolites from methanol extract of stem bark of *Bauhinia semibifida* Roxb. Three pure compounds which are an alkaloid (BR1) and two flavonoids (BR2 and BR3) have been isolated by extraction using maceration method followed by fractionation using column chromatography method. Antioxidant activity assay was carried out by 2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl (DPPH) method. Compound BR1 showed IC₅₀ >1000 µg/mL categorized as inactive as an antioxidant, while compounds BR2 and BR3 showed IC₅₀ 2.92 µg/mL and 4.394 µg/mL, respectively, categorized as very strong as an antioxidant when compared to vitamin C as a control. Based on the evaluation of the antioxidant activity, the BR2 was selected compound to be further identified using *Fourier-Transform Infrared Spectroscopy* (FTIR) and *Proton Nuclear Magnetic Resonance* (¹H-NMR) spectroscopy. The result shows that the isolate compounds possibly have the basic structure of flavonoids.

PENDAHULUAN

Bauhinia semibifida Roxb. atau dikenal dengan kangkang katup atau pohon kupu-kupu merupakan salah satu komposisi ramuan tradisional “obat pahit” oleh masyarakat Melayu Lingga. Tumbuhan tersebut memiliki khasiat menjaga stamina tubuh, mengobati pegal linu (Lovadi *and* Linda, 2015) dan ramuan tersebut memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC₅₀ sebesar 6,62 ppm (Fitmawati *et al.*, 2017).

Pada penelitian isolasi *B. semibifida* Roxb. sebelumnya, diketahui fraksi 11 hasil Kromatografi Cair Vakum dari ekstrak etil asetat kulit batang *B. semibifida* Roxb. mengandung senyawa terpenoid dan memiliki aktivitas antioksidan yang lemah dengan nilai IC₅₀ sebesar 179 µg/mL (Fadhli *et al.*, 2020). Sedangkan penelitian yang dilakukan oleh Erdityo *et al.* (2014) terhadap ekstrak etil asetat kulit batang *B. semibifida* Roxb. diperoleh senyawa fenolik 6*C*-7*O*-dimethylaromadendrin dan phlorizin yang memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel Murin Leukimia P-388 dengan IC₅₀ sebesar 72,93 ppm. Selain itu, pada penelitian Fadhli *et al.* (2019) menunjukkan bahwa ekstrak metanol kulit batang *B. semibifida* Roxb. memiliki aktivitas antioksidan yang kuat dengan nilai IC₅₀ sebesar 16 µg/mL.

Berdasarkan permasalahan yang telah diuraikan, maka penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi senyawa metabolit sekunder lainnya yang terkandung dalam ekstrak metanol kulit batang *B. semibifida* Roxb. serta uji

aktivitasnya sebagai antioksidan secara *in vitro* dengan metode DPPH (2,2 difenil-1-pikrilhidrazil). Hasil yang diperoleh dapat digunakan untuk menambah informasi data metabolit sekunder yang mempunyai aktivitas antioksidan.

METODE PENELITIAN

Sampel dan Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kulit batang *B. semibifida* Roxb. yang diperoleh dari Kawasan Hutan Dengan Tujuan Khusus (KHDTK) Bukit Suligi Kabupaten Rokan Hulu Provinsi Riau dan telah diidentifikasi di Laboratorium Botani Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Jurusan Biologi Universitas Riau (No. 64a.UN19.1.28.Bio/Botani/2017). Pelarut yang digunakan yaitu n-heksana, etil asetat, metanol teknis (Brataco®) yang telah didestilasi. Alat yang digunakan yaitu *rotary evaporator* (Buchi®), plat KLT (Merck®), lampu UV-Vis 254 nm dan 366 nm (Camag®), *melting point apparatus* (SMP-11®), *microplate reader* (Tristar LB 941 BERTHOLD®), spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu® UV-1800), spektrofotometer FT-IR (IR Prestige-21®) dan spektroskopi ¹H-NMR (Agilent DD2® (500 MHz).

Ekstraksi Senyawa Metabolit Sekunder

Sebanyak 2 kg kulit batang kering *B. semibifida* Roxb. diekstraksi dengan metode maserasi bertingkat dengan masing-masing pelarut n-heksana, etil asetat, metanol. Maserasi dilakukan selama 3 hari dengan 3 kali pengulangan tiap masing-masing pelarut. Hasil maserasi disaring, dikumpulkan dan dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* (Buchi®) sehingga didapat ekstrak kental n-heksana, etil asetat, dan metanol. Ekstrak kental metanol sebanyak 10 gram difraksinasi dengan metode kromatografi kolom dengan fase diam *silica gel* 60 (0,2 – 0,5 mm). Selanjutnya, dilakukan elusi dengan sistem SGP (*Step Gradient Polarity*) dengan pelarut n-heksana, etil asetat, metanol dengan berbagai perbandingan. Hasil pemisahan ditampung dalam vial dan diberi label. Hasil pengkoloman diperoleh sebanyak 459 vial.

Hasil fraksinasi kromatografi kolom dimonitor dengan KLT (Merck®) dan penampak noda lampu UV-Vis 254 nm dan 366 nm (Camag®). Fraksi dengan pola yang sama digabungkan sehingga diperoleh 17 fraksi (F1 – F17). Fraksi F1, F2, F8 yang menunjukkan pola noda dominan dan terdapat kristal. Fraksi ini selanjutnya dilakukan pemurnian dengan teknik pencucian dan rekristalisasi menggunakan pelarut etil asetat dan n-heksana sehingga didapat senyawa dengan label BR1 (7,3 mg), BR2 (24,6 mg) dan BR3 (13,4 mg). Ketiga senyawa yang diperoleh dilakukan *monitoring* dengan KLT, lampu UV-Vis 254 nm dan 366 nm serta reagen penampak noda ALC₃ dan Dragendorff (Pratiwi *and* Ersam, 2013). Dari hasil uji aktivitas antioksidan diketahui bahwa senyawa BR2 dan BR3 memiliki aktivitas antioksidan yang kuat.

Karakterisasi Senyawa Hasil Isolasi

Karakterisasi senyawa hasil isolasi meliputi pemeriksaan organoleptis, sifat kimia, sifat fisika, pengukuran titik leleh dengan *Melting Point Apparatus* (SMP-11®) dan spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu® UV-1800), spektrofotometer FT-IR (IR Prestige-21®), spektroskopi ¹H-NMR (Agilent DD2® (500 MHz).

Uji Aktivitas Antioksidan

Uji aktivitas antioksidan dilakukan terhadap senyawa murni BR1, BR2, dan BR3 dengan metode DPPH menggunakan *microplate reader* (Zhang *et al.*, 2006; Kedare *and* Singh, 2011) yang telah dimodifikasi. *Microplate* yang digunakan terdiri dari baris A – H dengan masing-masing berjumlah 12 sumur. Senyawa isolat diambil sebanyak 1 mg dilarutkan dalam 1 mL metanol, dibuat dengan seri konsentrasi 1000; 500; 250; 125; 62,5; dan 31,25 µg/mL. Selanjutnya, ditambahkan DPPH (Sigma-aldrich®) dengan konsentrasi 40 µg/mL sebanyak 0,08 mL. Kemudian dilakukan proses inkubasi selama 30 menit pada suhu kamar dan terlindung dari cahaya. Pengukuran menggunakan *microplate reader* (Tristar LB 941 BERTHOLD®) dan aktivitas penangkapan radikal ditandai terjadi penurunan absorbansi. Kontrol positif yang digunakan adalah vitamin C (Merck®) dengan perbandingan konsentrasi yaitu 100; 50; 25; 12,5; 6,25; dan 3,125 µg/mL. Kemudian dilakukan perhitungan nilai % inhibisi (Persamaan (1)) dan nilai IC₅₀.

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

Analisis data

Data-data yang didapatkan kemudian dilakukan analisis secara deskriptif dan disajikan dalam bentuk data, tabel ataupun gambar mengenai organoleptis, sifat fisika dan sifat kimia. Penetapan nilai IC_{50} dilakukan dengan persamaan grafik linear (Persamaan (2)) antara \ln konsentrasi larutan uji (x) dengan %inhibisi ($y = 50$) yang diperoleh dibandingkan dengan IC_{50} vitamin C.

$$y = ax + b \quad (2)$$

Keterangan:

$y = 50$ (% inhibisi)

$a =$ Slope

$b =$ Intersep

$x =$ Konsentrasi sampel (ppm)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sebanyak 2 kg simplisia kulit batang tumbuhan *B. semibifida* Roxb. diekstraksi dengan metode maserasi bertingkat dengan pelarut n-heksana, etil asetat, dan metanol sehingga diperoleh ekstrak n-heksana sebanyak 1,235 g, ekstrak etil asetat sebanyak 69,76 g dan ekstrak metanol sebanyak 344,33 g. Ekstrak metanol kulit batang *B. semibifida* Roxb. difraksinasi menggunakan kromatografi kolom gravitasi dengan sistem eluen *Step Gradient Polarity* (SGP) diperoleh 3 senyawa yang diberi label BR1, BR2 dan BR3. Ketiga senyawa yang diperoleh dilakukan *monitoring* dengan KLT, lampu UV-Vis 254 nm dan 366 nm serta reagen penampak noda $AlCl_3$ dan Mayer. Tujuan dari *monitoring* ini untuk mengetahui dan memastikan kemurnian senyawa isolat dan golongan senyawa isolat yang didapat. Kemurnian senyawa ditandai dengan adanya satu noda pada setiap perbandingan eluen (Pratiwi and Ersam, 2013).

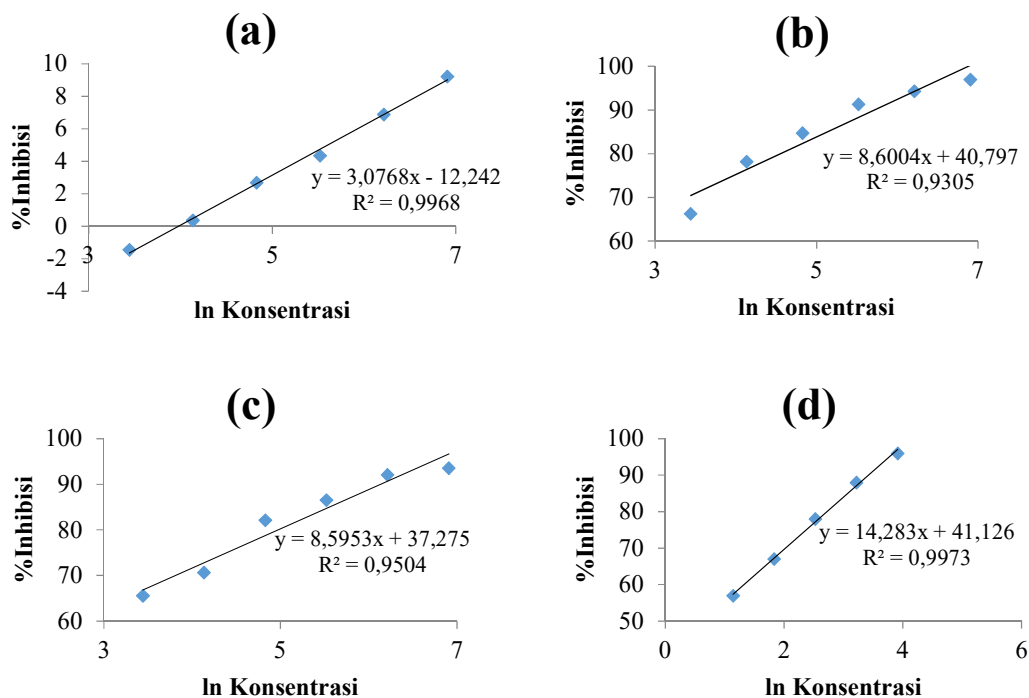
Tabel 1. Hasil uji aktivitas antioksidan senyawa murni BR1, BR2, BR3 dan vitamin C.

Sampel	Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	\ln Konsentrasi	Absorbansi Sampel* \pm SD	% Inhibisi	IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)
BR1	1000	6,908	0,417 \pm 0,010	9,223	>1000
	500	6,215	0,427 \pm 0,014	6,899	
	250	5,521	0,439 \pm 0,014	4,357	
	125	4,828	0,447 \pm 0,016	2,687	
	62,5	4,135	0,457 \pm 0,006	0,363	
	31,25	3,442	0,466 \pm 0,006	-1,450	
BR2	1000	6,908	0,015 \pm 0,003	96,962	2,92
	500	6,215	0,028 \pm 0,002	94,328	
	250	5,521	0,043 \pm 0,007	91,357	
	125	4,828	0,075 \pm 0,004	84,740	
	62,5	4,135	0,108 \pm 0,006	78,190	
	31,25	3,442	0,167 \pm 0,006	66,239	
BR3	1000	6,908	0,034 \pm 0,004	93,542	4,39
	500	6,215	0,042 \pm 0,002	92,100	
	250	5,521	0,072 \pm 0,008	86,520	
	125	4,828	0,095 \pm 0,005	82,132	
	62,5	4,135	0,156 \pm 0,007	70,658	
	31,25	3,442	0,183 \pm 0,006	65,580	
Vitamin C	100	4,605	0,010 \pm 0,002	96	4
	50	3,912	0,027 \pm 0,002	88	
	25	3,219	0,049 \pm 0,002	78	
	12,5	2,526	0,076 \pm 0,007	67	
	6,25	1,833	0,096 \pm 0,008	57	
	3,125	1,139	0,122 \pm 0,009	46	

*Hasil dinyatakan dalam rata-rata ($n = 3$)

Uji aktivitas antioksidan terhadap tiga senyawa murni yaitu BR1, BR2 dan BR3 bertujuan untuk mengetahui tingkat kemampuan masing-masing senyawa murni sebagai antioksidan, senyawa yang memiliki tingkat

kemampuan yang paling baik dilanjutkan untuk identifikasi FT- IR dan ^1H NMR. Metode DPPH menjadi metode pilihan karena merupakan metode sederhana, mudah, dan menggunakan sampel dalam jumlah yang sedikit dengan waktu yang singkat (Molyneux, 2004; Utomo *et al.*, 2011). Berdasarkan hasil uji aktivitas antioksidan dengan 3 kali pengulangan dan menggunakan metode analisa regresi linear (Tabel 1) menunjukkan bahwa BR1 memiliki nilai $\text{IC}_{50} > 1000 \mu\text{g/mL}$, sedangkan senyawa BR2, BR3 dan Vitamin C memiliki nilai IC_{50} yaitu $2,92 \mu\text{g/mL}$; $4,39 \mu\text{g/mL}$ dan $4 \mu\text{g/mL}$. Jika dibandingkan nilai IC_{50} sampel terhadap kontrol standar penentuan nilai IC_{50} , senyawa BR1 tergolong tidak aktif ($> 500 \mu\text{g/mL}$) dan senyawa BR2 dan BR3 tergolong sangat kuat ($< 50 \mu\text{g/mL}$) (Molyneux, 2004).

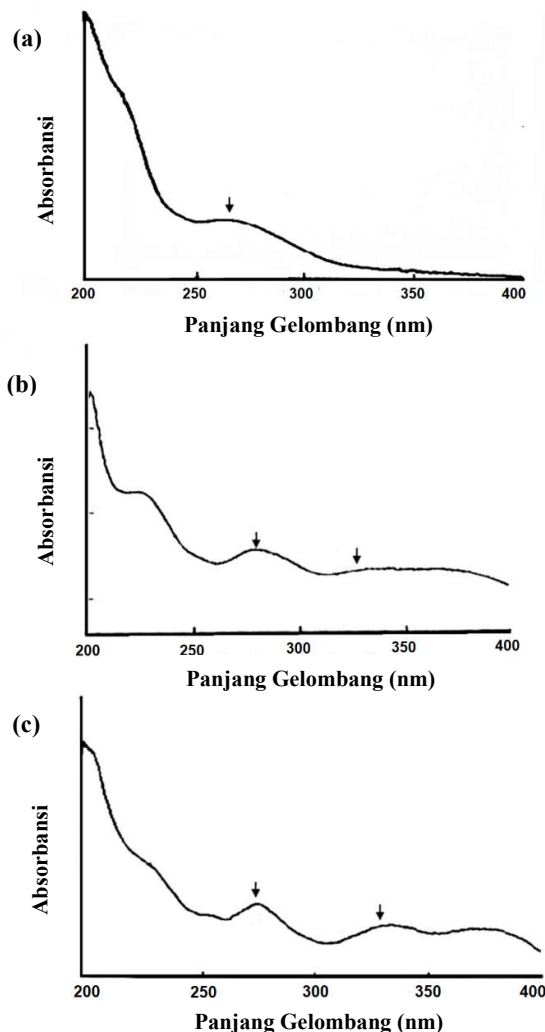


Gambar 1. Kurva Persamaan Regresi IC_{50} senyawa (a) BR1, (b) BR2, (c) BR3 dan (d) Vitamin C.

Berdasarkan Tabel 1 dan gambar 1, senyawa murni BR2 dan BR3 memiliki aktivitas sangat kuat sebagai antioksidan dengan nilai IC_{50} sebesar $2,92 \mu\text{g/mL}$ dan $4,39 \mu\text{g/mL}$ dibandingkan pada penelitian sebelumnya yang menunjukkan bahwa ekstrak metanol kulit batang *B. semibifida* Roxb. memiliki IC_{50} sebesar $16 \mu\text{g/mL}$ (Fadhli *et al.*, 2019). Perbedaan aktivitas antioksidan senyawa BR2 dan BR3 yang merupakan senyawa murni dibanding dengan ekstrak metanol, dikarenakan ekstrak metanol mengandung lebih dari satu senyawa aktif yang memungkinkan adanya interaksi pada senyawa ekstrak tersebut, di mana interaksi bersifat antagonis ataupun sinergis (Prieto *et al.*, 2014).

Karakterisasi senyawa dilakukan melalui pemeriksaan organoleptis, pemeriksaan kimia dan fisika dari senyawa murni (Tabel 2). Senyawa BR1 berupa kristal tidak berwarna, dengan reagen Mayer senyawa BR1 menunjukkan positif alkaloid, larut dalam pelarut n-heksana, etil asetat dan metanol, dengan pengukuran titik leleh dengan melting point apparatus (SMP-11®) senyawa BR1 memiliki titik leleh $145 - 147 \text{ }^\circ\text{C}$. Pada analisis spektroskopi UV menunjukkan puncak pada panjang gelombang 266 nm dengan absorbansi $0,224$ (Gambar 2).

BR2 berupa kristal jarum berwarna kekuningan, dengan reagen semprot AlCl_3 1%, BR2 menunjukkan positif flavonoid karena memberikan noda warna kuning (Tabel 2). BR2 larut dalam pelarut etil asetat dan metanol, tidak larut dalam n-heksana, pengukuran titik leleh dengan *melting point apparatus* (SMP-11) senyawa BR2 memiliki titik leleh $174 - 176 \text{ }^\circ\text{C}$. Pada analisis spektroskopi UV menunjukkan puncak pada panjang gelombang 279 nm dan 335 nm dengan absorbansi $0,284$ dan $0,132$. BR3 kristal berwarna kuning kejinggaan, dengan reagen AlCl_3 menunjukkan positif flavonoid, larut dalam pelarut etil asetat dan metanol, tidak larut dalam n-heksana, senyawa BR3 memiliki titik leleh $163 - 165 \text{ }^\circ\text{C}$. Pada analisis spektroskopi UV menunjukkan puncak pada panjang gelombang 275 nm dan 331 nm dengan absorbansi $0,536$ dan $0,372$.


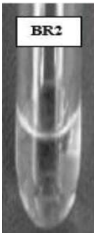









Gambar 2. Spektrum UV senyawa (a) BR1, (b) BR2, dan (c) BR3.

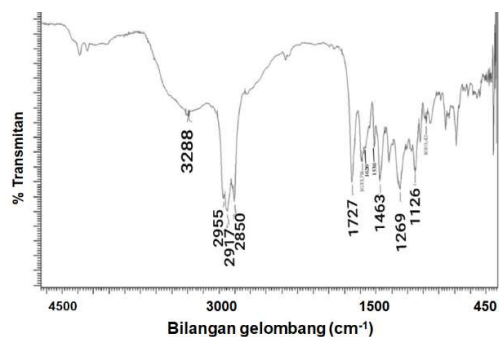
Senyawa BR2 dan BR3 memiliki kemiripan pada pola spektrum UV, begitu juga dengan panjang gelombang maksimumnya yang tidak jauh berbeda. Ciri khas spektrum UV flavonoid memiliki puncak bahu yang muncul pada daerah pita I (300 – 385 nm) dan pita II (240 – 280 nm) yang menunjukkan adanya ikatan rangkap terkonjugasi seperti pada bentuk spektrum kedua senyawa tersebut (Gambar 2). Puncak yang muncul pada pita II menunjukkan adanya serapan dari sistem konjugasi cincin A, sedangkan pita I menunjukkan adanya serapan dari sistem konjugasi cincin B pada struktur umum flavonoid. Selain itu, senyawa BR2 dan BR3 diidentifikasi menggunakan pereaksi AlCl_3 menunjukkan noda kuning (Tabel 2), hal ini juga menunjukkan senyawa BR2 dan BR3 memiliki struktur umum flavonoid (Andersen *and* Markham, 2006).

Senyawa BR2 dilanjutkan analisis spektroskopi FT-IR dan ^1H NMR, karena memiliki aktivitas antioksidan yang paling baik dari pengujian dua senyawa murni lainnya. Berdasarkan hasil analisis spektroskopi FT-IR dengan metode pelet KBr terhadap senyawa BR2 mempunyai pita serapan pada bilangan gelombang 3288 cm^{-1} yang menunjukkan vibrasi dari OH. Adanya gugus hidroksil ini diperkuat dengan munculnya C–O alkohol pada bilangan gelombang 1126 cm^{-1} dan C–O–C pada 1269 cm^{-1} . Adanya serapan C=C aromatis senyawa BR2 pada analisis spektrofotometer UV didukung oleh spektrum inframerah dengan munculnya serapan C=C aromatis yaitu pada bilangan gelombang 1463 cm^{-1} . Vibrasi untuk C–H alifatik muncul pada bilangan gelombang pada 2955 cm^{-1} yang merupakan vibrasi dari metil, 2917 cm^{-1} vibrasi dari metilen dan 2850 cm^{-1} vibrasi dari metin (Gambar 3). Vibrasi karbonil terkonjugasi (C=O) juga terlihat pada bilangan gelombang 1633 cm^{-1} dan 1727 cm^{-1} (Coates, 2006; Sastrohamidjojo, 2013).

Tabel 2. Karakterisasi senyawa BR1, BR2 dan BR3.

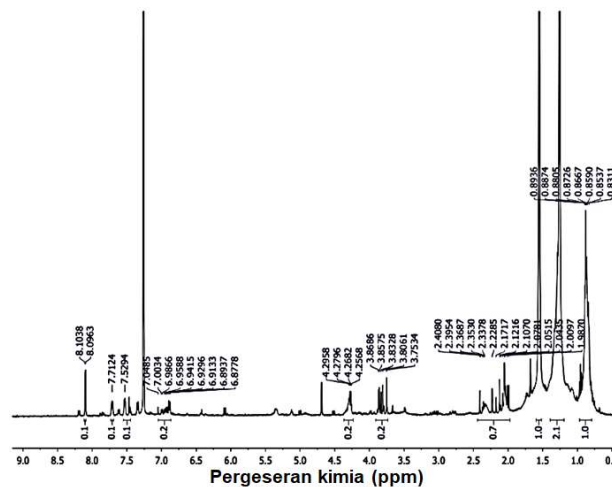
Karakterisasi	Senyawa BR1	Senyawa BR2	Senyawa BR3
Organoleptis			
Bentuk	Kristal jarum	Kristal jarum	kristal
Warna	Tidak berwarna	Putih kekuningan	Kuning kejinggaan
Pemeriksaan Kelarutan	Larut dalam n-heksana, etil asetat dan metanol	Tidak larut dalam n-heksana, Larut dalam etil asetat dan metanol	Tidak larut dalam n-heksana, Larut dalam etil asetat dan metanol
Titik Leleh	145 – 147 °C	174 – 176 °C	163 – 165 °C
Pemeriksaan Senyawa Kimia Meyer	Endapan putih	Tidak bereaksi	Tidak bereaksi
			
AlCl ₃ 1%	Tidak bereaksi	Kuning	Kuning
			
Pemeriksaan KLT	Fase gerak n-heksana : etil asetat (7:3) Rf = 0,52	Fase gerak n-heksana : etil asetat (7:3) Rf = 0,44	Fase gerak n-heksana : etil asetat (8:2), Rf = 0,1
			

Data analisis spektroskopi FTIR ini akan didukung dengan data analisis ¹H NMR yang telah dilakukan (Gambar 4). Senyawa BR2 yang merupakan positif golongan senyawa flavonoid dianalisis dengan ¹H NMR (500 MHz) menggunakan pelarut CDCl₃, memperlihatkan sinyal proton pada geseran kimia (ppm) pada 8,1 (d, *J* = 3,8 Hz, 1H), 7,7 (s, 1H), 7,5 (s, 1H), 7,46 (t, *J* = 8,15 Hz, 1H), 7,35 (d, *J* = 8,25 Hz, 1H), 6,89 (d, *J* = 8 Hz, 1H), di mana sinyal tersebut merupakan sinyal proton pada cincin aromatik senyawa flavonoid (Dachriyanus, 2004). Ikatan C=C aromatik juga terlihat pada analisis spektroskopi FT-IR sebelumnya. Selain itu, analisis ¹H-NMR memperlihatkan sinyal proton pada δ_H 4,26 dan 4,83 serta sinyal proton pada δ_H 2,40 4 (m, 1H) dan 2,22 (m) yang diperkirakan sebagai sinyal gugus metilen (Silverstein *et al.*, 2014).



Gambar 3. Spektrum FT-IR senyawa BR2.

Menurut Blunder *et al.* (2017), pergeseran kimia ini merupakan ciri khas dari proton aromatik cincin A dan C pada senyawa flavonoid diperkirakan golongan flavon. Dugaan golongan flavon diperkuat dengan fluoresensi senyawa BR2 di bawah lampu UV 366 nm (Blunder *et al.*, 2017; Packer, 2001). Adanya pergeseran kimia 2,4 (m, 1H), 1,56 (s, 1H), 1,3 (s, 2H), 0,89 (m, 1H) merupakan pergeseran proton metil dan metilen (Silverstein *et al.*, 2014). Adanya gugus metil dan metilen didukung dengan vibrasi CH alifatik yang muncul pada analisis FTIR pada bilangan gelombang 2955 cm^{-1} yang merupakan vibrasi dari metil, 2917 cm^{-1} vibrasi dari metilen.



Gambar 4. Spektrum ^1H NMR senyawa BR2.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa hasil isolasi didapatkan tiga senyawa murni yang diberi label BR1, BR2, dan BR3. Identifikasi senyawa murni dengan reagen spesifik menunjukkan BR1 merupakan senyawa alkaloid, sedangkan BR2 dan BR3 merupakan senyawa flavonoid. Evaluasi aktivitas antioksidan menunjukkan bahwa senyawa murni yang memiliki aktivitas sangat kuat adalah senyawa BR2 dengan IC_{50} sebesar 2,915 $\mu\text{g}/\text{mL}$ dan berdasarkan hasil analisis spektroskopi disimpulkan bahwa senyawa BR2 merupakan senyawa golongan flavonoid.

DAFTAR PUSTAKA

- Andersen, M. and Markham, K.R., 2006. *Flavonoids*. Taylor and Francis Group, New Zealand.
- Blunder, M., Orthaber, A., Rudolf, B., and Bucar, F., 2017. Efficient Identification of Flavones, Flavanones and Their Glycosides in Routine Analysis via Off-line Combination of Sensitive NMR and HPLC Experiment. *Food Chemistry*, 218, 600–609. doi: 10.1016/j.foodchem.2016.09.077.
- Coates, J., 2006. *Interpretation of Infrared Spectra, A Practical Approach*. Taylor and Francis Group, New Zealand.
- Dachriyanus, D., 2004. *Analisis Struktur Senyawa Organik secara Spektroskopi*. Andalas University Press, Padang.

- Erdityo, C.W., Tanjung, M.M., and Tjahjandarie, T.S., 2014. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Fenolik dari Batang *Bauhinia semibifida* serta Uji Aktivitas Antikanker terhadap Sel Murin Leukemia P-388. *ADLN - Perpustakaan Universitas Airlangga*.
- Fadhli, H., Lukman, A., and Adawiyah, R., 2020. Isolasi dan Uji Aktivitas Antioksidan Metabolit Sekunder dari Ekstrak Etil Asetat Kulit Batang Kangkang Katup (*Bauhinia semibifida* Roxb). *Al-Kimia* 8(1), 36–45. doi: 10.24252/al-kimia.v8i1.10152.
- Fadhli, H., Nurdin, A.N., and Octaviani, M., 2019. Potensi Antioksidan dari Ekstrak Kulit Batang *Bauhinia semibifida* Roxb. *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina* 4(1), 77–87. doi: 10.36387/jiis.v4i1.257.
- Fitmawati, F., Sofiyanti, N., Roza, R.M., Isnaini, I., Irawan, Y.R., Winata, D.R., and Dewi, A.P.K., 2017. Antioxidant Activity of Dominant Plants Species in Obat Pahit from Lingga Malay Ethnic in Riau Archipelago. *Biosaintifika: Journal of Biology & Biology Education* 9(2), 325–331. doi: 10.15294/biosaintifika.v9i2.9808.
- Kedare, S.B., and Singh, R.P., 2011. Genesis and Development of DPPH Method of Antioxidant Assay. *Journal of Food Science and Technology* 48(4), 412–422. doi: 10.1007/s13197-011-0251-1.
- Lovadi, I. and Linda, R., 2015. Pemanfaatan Tumbuhan dalam Pengobatan Tradisional Masyarakat Suku Dayak Kanayat di Desa Ambawang Kecamatan Kubu Kabupaten Kubu Raya. *Protobiont* 4(3), 49–59. doi: 10.26418/protobiont.v4i3.13303.
- Molyneux, P., 2004. The Use of the Stable Free Radical Diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. *Songklanakarin Journal of Science and Technology* 26, 211–219.
- Pratiwi, A. and Ersam, T., 2013. Uji Kemurnian Dua Senyawa dari Ekstrak Metanol Kayu Batang *Garcinia cylindrocarpa*. *Jurnal Sains dan Seni Pomits* 2(2), 1–4. doi: 10.12962/j23373520.v2i2.4310.
- Prieto, M. A., Murado, M.A., and Vázquez, J.A., 2014. Quantification, Characterization and Description of Synergy and Antagonism in the Antioxidant Response. *Food Research International* 2(1), 1–34. doi: 10.1016/j.foodres.2013.09.033.
- Sastrohamidjojo, H., 2013. *Dasar-dasar Spektroskopi*. UGM Press, Yogyakarta.
- Silverstein, R.W., Francis, W., David, K., and David L, B., 2014. *Spectrometric Identification of Organic Compounds*. 8 ed. Wiley India Pvt, New York.
- Utomo, A.B., Suprijono, A., and Risdianto, A., 2011. Uji Aktivitas Antioksidan Kombinasi Ekstrak Sarang Semut (*Myrmecodia pendans*) dan Ekstrak Teh Hitam (*Camellia sinensis* O.K.var.assamica (mast.)) dengan Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). *Media Farmasi Indonesia*, 1–9.
- Zhang, Q., Zhang, J., Shen, J., Silva, A., Dennis, D.A., and Barrow, C.J., 2006. A Simple 96-Well Microplate Method for Estimation of Total Polyphenol Content in Seaweeds. *Journal of Applied Phycology* 18(3–5), 445–450. doi: 10.1007/s10811-006-9048-4.