



POTENSI ANTIOKSIDAN ALAMI REMPAH BUNGA HONJE HUTAN (*Etlingera hemisphaerica* (Blume) R. M. Sm.) DAN ISOLASI SENYAWA AKTIFNYA

¹Kartika Putri Sholikhah, ²Soraya Riyanti*, ³Wahyono

^{1,2,3}Program Studi Sarjana Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Jenderal Achmad Yani

Info Article

Submitted :

12 Januari 2023

Revised :

24 Juni 2023

Accepted :

17 Juli 2023

Corresponding Author :

Soraya Riyanti

Email :

anti.piper81@gmail.com

ABSTRAK

Antioksidan merupakan senyawa yang mampu menghambat pembentukan radikal bebas dan melindungi tubuh dari berbagai macam penyakit termasuk paparan virus COVID-19. Salah satu tanaman dari Zingiberaceae yang berpotensi sebagai antioksidan adalah bunga honje hutan (*Etlingera hemisphaerica* (Blume) R. M. Sm.). Penelitian ini bertujuan mengetahui aktivitas antioksidan secara kualitatif serta mengisolasi senyawa aktifnya. Proses ekstraksi dilakukan secara maserasi dengan pelarut etanol 96%. Fraksinasi dengan ekstraksi cair-cair (ECC) menggunakan *n*-heksana, etil asetat, *n*-butanol, serta air. Fraksi dan ekstrak dilakukan pemantauan aktivitas antioksidan menggunakan metode kromatografi lapis tipis (KLT) dan dinamolisis dengan penampak bercak DPPH 0,05% b/v dalam metanol. Hasil positif antioksidan ditunjukkan adanya bercak berwarna kuning berlatar ungu. Fraksi etil asetat dilakukan proses pemisahan menggunakan metode kromatografi cair vakum (KCV), pemurnian dengan metode kromatografi lapis tipis preparatif (KLT-P) dan uji kemurnian dengan KLT dengan beberapa pengembang dan KLT 2 dimensi. Isolat dipantau dengan KLT menggunakan penampak bercak DPPH dan sitroborat memberikan reaksi positif. Isolat yang diperoleh memiliki aktivitas antioksidan. Hasil identifikasi isolat menggunakan spektrofotometer *UV-Visible* diperoleh data panjang gelombang pita I (290,60 nm) dan pita II (250,20 nm). Isolat diduga merupakan kelompok flavonoid golongan flavon.

Kata kunci: *Etlingera hemisphaerica* (Blume) R. M. Sm., Isolasi, Antioksidan

Access this article



ABSTRACT

Antioxidants are compounds that can inhibit the formation of free radicals and protect the body from various diseases, including exposure to COVID-19. One of the plants in the family Zingiberaceae, Etlingera hemisphaerica (Blume) R. M. Sm. has the potential to be an antioxidant. This study aimed to determine the qualitative antioxidant activity and isolate the antioxidant-active compounds. Extraction was performed using 96% ethanol. Fractionation was carried out by liquid-liquid extraction using n-hexane, ethyl acetate, and n-butanol. Fractionation and extract were monitored for antioxidant activity using thin layer chromatography (TLC) and dynamized with the aid of a DPPH 0,05% w/v spot viewer. Positive

antioxidant results were indicated by the presence of yellow spots on the purple background. The ethyl acetate fraction was separated by vacuum liquid chromatography (VLC), purified by preparative thin layer chromatography (TLC-P), and purity tested using TLC with three different eluent methods and two-dimensional TLC. The isolate was monitored by TLC using a DPPH and sitroborate spot viewer to obtain a positive reaction. This isolate showed antioxidant activity. The results of the identification of the isolate were identified using UV-Visible spectrophotometry to obtain wavelengths of band I (290,60 nm) and Band II (250,20 nm). Isolates are the flavonoid groups of flavones.

Keywords: *Etingera hemisphaerica* (Blume) R. M. Sm., Isolation, antioxidant

1. PENDAHULUAN

Pada awal tahun 2020 Indonesia digemparkan dengan adanya pandemik *coronavirus disease* 2019 (COVID-19), penyakit yang disebabkan oleh virus *corona SARS-Cov-2* yang berasal dari Wuhan, Tiongkok. Seiring dengan berjalannya kondisi pandemik COVID-19, meningkat pula kesadaran masyarakat akan pentingnya hidup sehat. Masyarakat kini membutuhkan pangan tidak hanya memiliki komposisi yang baik, melainkan pangan yang mampu meningkatkan fungsi fisiologis tubuh. Di era endemik ini sangat dibutuhkan suplemen serta pangan fungsional yang dapat menunjang sistem imunitas tubuh seperti vitamin dan antioksidan.

Antioksidan merupakan senyawa yang mampu membantu meningkatkan sistem kekebalan tubuh dengan mengikat molekul yang sangat reaktif (radikal bebas). Radikal bebas bersifat tidak stabil sehingga akan bereaksi dengan molekul lainnya untuk mencapai kestabilan. Reaksi ini akan menimbulkan adanya senyawa tidak normal yang dapat merusak sel sel penting di dalam tubuh. Metode peredaman radikal bebas *2,2-diphenyl-2-*

pikrihidrazil (DPPH) metode yang cocok untuk identifikasi awal antioksidan pada tumbuhan. Keberadaan antioksidan yang dapat menyumbangkan elektron pada DPPH, menghasilkan warna kuning yang merupakan ciri spesifik dari radikal DPPH. Peredaman senyawa DPPH akan memudahkan warna ungu sehingga berubah menjadi warna kuning yang berasal dari gugus pikril (Ningsih et al., 2019).

Honje hutan (*Etingera hemisphaerica* (Blume) R. M. Sm.) merupakan tanaman tropis keluarga Zingiberaceae yang dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai rempah-rempah dan obat tradisional. Menurut (Nababan et al., 2015). Honje hutan mengandung flavonoid, polifenol, steroid, saponin, dan minyak atsiri. Berdasarkan teori kemotaksonomi, terdapat kemiripan kandungan kimia serta aktivitas farmakologi dari tumbuhan dalam marga atau keluarga yang sama. Beberapa penelitian telah dilaporkan mengenai senyawa yang terkandung pada genus *Etingera elatior* (Jack) R. M. Sm. telah dilaporkan bunga honje hutan memiliki potensi dan berkhasiat sebagai

antioksidan dengan menggunakan metode DPPH diperoleh nilai IC_{50} fraksi etil asetat dan ekstrak metanol sebesar 29,81 $\mu\text{g/mL}$ serta 21,14 $\mu\text{g/mL}$ (Irianti et al., 2019).

Berdasarkan latar belakang tersebut, bunga honje hutan berpotensi sebagai sumber antioksidan alami. Dari penelusuran pustaka belum terdapat laporan mengenai senyawa aktif yang terkandung dalam bunga honje hutan yang berpotensi sebagai antioksidan, sehingga perlu dilakukan penelitian mengenai proses isolasi senyawa aktif antioksidan yang berasal dari bunga honje hutan. Adanya penelitian ini akan membawa keterbaruan informasi kepada masyarakat dalam bentuk bukti ilmiah mengenai senyawa aktif antioksidan dari rempah bunga honje hutan. Serta kedepannya dapat dikembangkan dalam bentuk pemanfaatan sebagai pangan fungsional maupun herbal antioksidan di era endemik COVID-19.

2. METODE PENELITIAN

2.1 Alat

Peralatan gelas laboratorium, oven, alat penggiling simplisia, maserator, *rotary evaporator* (Heidolph Germany), timbangan analitik, corong pisah, bejana kromatografi lapis tipis (KLT), plat KLT 254 nm, seperangkat alat kromatografi cair vakum, alat spektrofotometri *UV-Visible* (Shimadzu UV-1800), lampu UV 254 nm dan 366 nm.

2.2 Bahan

Bunga honje hutan (*Etlintera hemisphaerica* (Blume) R. M. Sm.) yang diperoleh dari Kabupaten Pangandaran, etanol 96% (Merck), *n*-heksana (Merck), etil asetat (Merck), *n*-butanol (Merck),

pereaksi DPPH, metanol (Merck), 1 set pereaksi penapisan fitokimia, aquades, kloroform (Merck), silika gel GF₂₅₄ (Merck), silika gel H₆₀ (Merck).

2.3 Prosedur Penelitian

2.3.1 Pembuatan Simplisia dan Determinasi

Sampel bunga honje hutan didapatkan dari Kabupaten Pangandaran. Sampel di determinasi untuk memastikan identitas sampel. Proses sortasi basah dilakukan pada sampel bunga honje hutan, dikeringkan dalam oven (60°C), dan dihaluskan menjadi serbuk simplisia.

2.3.2 Penentuan Karakteristik

Penentuan karakteristik meliputi pemeriksaan makroskopis, penetapan kadar abu, kadar sari, kadar air, susut pengeringan, serta bobot jenis ekstrak (FHI, 2017).

2.3.3 Penapisan Fitokimia

Uji fitokimia meliputi identifikasi flavonoid, alkaloid, tanin, saponin, steroid, dan triterpenoid, monoterpenoid dan seskuiterpenoid secara kualitatif (Farnsworth, 1966).

2.3.4 Ekstraksi

Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi. Serbuk simplisia bunga honje hutan sebanyak 750 gram dimasukkan ke dalam maserator kemudian ditambahkan etanol 96% dan direndam selama 6 jam sambil diaduk sesekali, lalu dibiarkan selama 18 jam. Maserat kemudian disaring. Proses ini diulang sebanyak 3 kali. Semua maserat dikumpulkan dan diuapkan dalam *rotary evaporator* hingga didapatkan ekstrak kental bunga honje hutan.

2.3.5 Fraksinasi

Proses fraksinasi dilakukan dengan metode ekstraksi cair-cair (ECC) dimana ekstrak kental sebanyak 120 gram dilarutkan dengan air dimasukkan dalam corong pisah, dipartisi dengan pelarut *n*-heksana, etil asetat, *n*-butanol dan air. Masing masing fraksi yang diperoleh dipantau dengan KLT serta bantuan penampak bercak DPPH 0,05% serta diuapkan pelarutnya dengan *rotary evaporator* sehingga didapatkan fraksi kental.

2.3.6 Pemisahan Lanjut dan Pemurnian

Pemisahan lanjut dan proses pemurnian dilakukan dengan teknik kromatografi cair vakum (KCV) dengan fase gerak bergradien menggunakan *n*-heksana-etil asetat-metanol. Pemisahan dengan metode KCV menghasilkan subfraksi A, B, C, D, E dan F. Sedangkan pemisahan selanjutnya pada subfraksi B menggunakan kromatografi lapis tipis preparatif (KLT-P) dengan fase gerak kloroform-metanol menghasilkan subfraksi B1, B2, B3, B4, B5, B6, B7, dan B8. Setiap hasil pemisahan dan proses pemurnian selalu dipantau dengan kromatografi lapis tipis (KLT) yang diberi penampak bercak DPPH 0,05%. Uji pemurnian isolat dilakukan pada isolat B2 dengan metode KLT beberapa pengembang berbeda dan KLT dua dimensi.

2.3.7 Uji Kualitatif Antioksidan dengan DPPH

Ekstrak dan masing masing fraksi cair bunga honje hutan ditotolkan pada plat KLT, kemudian dielusi dengan fase gerak yang sesuai seperti pada ekstrak etil asetat-asam format-air (7:1:1), fraksi kloroform-metanol (9:1), dan isolat

kloroform-metanol (85:15), toluene-etil asetat (8:2). Kemudian disemprot dengan penampak bercak DPPH 0,05%. Selanjutnya kromatogram diamati dibawah lampu UV 254 nm dan 366 nm. Adanya spot positif antioksidan yang ditandai dengan adanya spot berwarna kuning dengan latar belakang berwarna ungu pada pengamatan secara visual.

2.3.8 Identifikasi Senyawa Hasil Isolasi

Identifikasi isolat yang diperoleh dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer *UV-Visible* untuk menentukan panjang gelombang maksimum (λ_{maks}) dari isolat.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada pengujian potensi aktivitas antioksidan digunakan bagian tanaman bunga honje hutan diperoleh dari Langkaplancar, Kabupaten Pangandaran, Jawa Barat. Simplisia segar bunga di determinasi di Departemen Biologi UNPAD. Hasil determinasi No. 27/LMB/IT/12/2021 menyatakan bahwa tanaman yang digunakan merupakan honje hutan dengan nama latin *Etlingera hemisphaerica* (Blume) R. M. Sm. Determinasi tanaman dilakukan untuk memastikan kebenaran identitas tanaman dan menghindari adanya kesalahan dalam penggunaan sampel tumbuhan. Bunga honje hutan dilakukan sortasi basah untuk membersihkan kotoran serta bahan asing yang ada pada simplisia. Pengeringan bunga dilakukan pada oven bertujuan untuk mengurangi kandungan air sehingga dapat memperpanjang masa simpan dikarenakan mencegah adanya pertumbuhan mikroorganisme akibat kandungan air yang berlebih. Simplisia kering dihaluskan untuk memperluas

permukaan untuk mempermudah proses karakterisasi, penapisan fitokimia serta ekstraksi karena adanya peningkatan kontak simplisia dengan pelarut organik.

Karakterisasi simplisia merupakan salah satu parameter dalam menganalisis kandungan kimia bahan alam yang bertujuan untuk mengetahui kualitas simplisia sudah sesuai standar dan persyaratan. Pada Farmakope Herbal Indonesia (FHI) karakterisasi simplisia yang dilakukan meliputi pemeriksaan makroskopik, mikroskopik, penetapan kadar abu, kadar sari, serta susut pengeringan. Pemeriksaan organoleptik dilakukan secara langsung menggunakan panca indera untuk melihat karakter dari

bagian tanaman. Bunga honje hutan berwarna merah terang, kelopak bunga berupa helaian seperti tabung berukuran besar hingga kecil di dalam, bunga memiliki diameter sekitar 7-7,5 cm, memiliki aroma khas dan rasa yang pahit. Pemeriksaan mikroskopik untuk mengamati dan mengidentifikasi fragmen spesifik tanaman. Kelopak bunga honje hutan memiliki jaringan epidermis berbentuk poligonal, rambut penutup, berkas pengangkut, serta parenkim mengandung minyak. Dalam pemeriksaan mikroskopik digunakan air dan kloralhidrat sebagai pereaksi. Hasil penentuan karakteristik simplisia bunga honje hutan tersaji pada **Tabel 1.** dibawah ini.

Tabel 1. Karakterisasi Simplisia Bunga Honje Hutan

Parameter	Hasil Penelitian	Parameter (FHI, 2017)
Susut Pengeringan	8,96 ± 0,81% b/b	Tidak lebih dari 10%
Kadar sari larut etanol	14,31 ± 1,08% b/b	Tidak kurang dari 16,5%
Kadar sari larut air	34,85 ± 4,27% b/b	Tidak kurang dari 11,6%
Kadar air	5,99 ± 1,64% v/b	Tidak lebih dari 10%
Kadar abu total	11,70 ± 0,085 b/b	Tidak lebih dari 10,6%
Kadar abu tidak larut asam	1,95 ± 0,17% b/b	Tidak lebih dari 4,7%
Kadar abu tidak larut air	8,80 ± 0,13% b/b	-

Pemeriksaan kadar abu dilakukan untuk mengetahui kandungan mineral berupa senyawa organik maupun anorganik dalam sampel. Pada penetapan kadar abu total simplisia bunga honje hutan sebesar 11,70% b/b. kadar abu total bertujuan untuk mengetahui adanya unsur mineral dan zat anorganik (Anggraeni, 2019). Hasil dari kadar abu total dilanjutkan pada kadar abu tidak larut asam untuk mengetahui zat anorganik tidak larut asam seperti silikat (Sutomo et al., 2017) serta kadar abu tidak larut air. Selanjutnya pemeriksaan kadar sari menunjukkan bahwa simplisia bunga honje hutan mengandung senyawa larut

dalam air serta larut etanol. Pada penelitian ini bunga honje hutan memiliki kadar sari air lebih besar dari kadar sari etanol, hal ini dapat diartikan bahwa sebagian besar senyawa metabolit sekunder lebih mudah larut dalam pelarut yang bersifat polar. Kemudian uji kadar air simplisia dilakukan untuk mengetahui kandungan air. Kadar air bunga honje hutan telah memenuhi syarat yaitu kurang dari 10% (<10%) hal ini dikarenakan kandungan air yang tinggi pada simplisia dapat menyebabkan bertumbuhnya bakteri dan jamur yang dapat merusak senyawa pada simplisia (Nurdyansyah et al., 2019). Kemudian

pada simplisia bunga honje hutan dilakukan uji susut pengeringan untuk memberikan batasan maksimal besarnya senyawa yang hilang pada proses pengeringan. Masa yang hilang dapat berupa molekul air maupun minyak atsiri.

Secara keseluruhan hasil pemeriksaan parameter karakteristik simplisia telah memenuhi persyaratan FHI, terdapat dua parameter yang tidak sesuai yaitu kadar sari larut etanol dan kadar abu total. Kedua parameter tersebut dapat disebabkan karena adanya

perbedaan jenis/spesies tanaman. Spesies yang tercantum di FHI merupakan spesies *Nicolaiae Speciosae Flos*, sedangkan sampel uji yang digunakan adalah *Etlintera hemisphaerica*.

Penapisan fitokimia merupakan analisis kualitatif untuk mengidentifikasi awal dalam mengetahui golongan senyawa bioaktif dalam simplisia dan ekstrak. Berdasarkan hasil penapisan fitokimia bunga honje hutan mengandung senyawa metabolit sekunder yang tertera pada **Tabel 2**.

Tabel 2. Penapisan Fitokimia Bunga Honje Hutan

Golongan senyawa	Bunga honje hutan	
	Simplisia	Ekstrak etanol 96%
Alkaloid	-	-
Kuinon	+	+
Polifenol	+	+
Flavonoid	+	+
Tanin	-	-
Saponin	-	-
Triterpenoid/Steroid	+	+
Monoterpenoid/seskuiterpen	+	+

Keterangan: (+) = terdeteksi adanya golongan senyawa metabolit sekunder
(-) = tidak terdeteksi adanya golongan senyawa metabolit sekunder

Berdasarkan **Tabel 2**, diperoleh hasil pengamatan bahwa bunga honje hutan mengandung metabolit sekunder kuinon, polifenol, triterpenoid/steroid, monoterpenoid/seskuiterpen, dan flavonoid. Hasil penelitian sebelumnya telah dilakukan pada ekstrak air bunga honje (*Etlintera elatior* (Jack) R. M. Sm.) dianalisis menggunakan GC-MS dari bunga honje menyatakan bahwa sedikitnya terdapat senyawa alkana, alkena, alkohol, asam lemak, ester, dan fenol (Sukandar et al., 2011).

Ekstraksi dilakukan dengan cara dingin yaitu maserasi dengan pelarut etanol 96% (1:10) dalam maserator. Pengadukan dilakukan sesekali selama 6

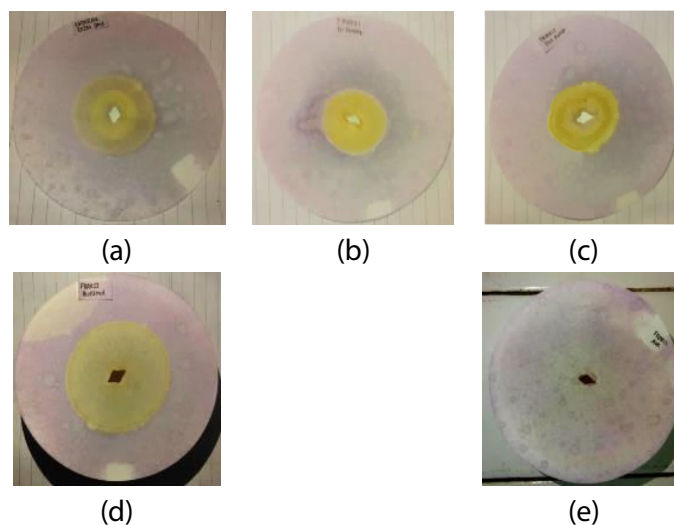
jam lalu didiamkan selama 18 jam. Pengadukan dilakukan untuk meningkatkan kontak antara simplisia dengan pelarut sehingga zat aktif yang terkandung semakin banyak tersari. Remaserasi dilakukan selama 3 kali untuk memaksimalkan penarikan senyawa dari simplisia bunga honje hutan. Ekstrak cair yang didapatkan dilakukan pemekatan dan penguapan menggunakan *rotary evaporator* serta *waterbath* sehingga diperoleh ekstrak kental sebanyak 140,41 gram dengan %rendemen ekstrak sebesar 18,69% b/b.

Ekstrak kental yang didapat dilakukan pemisahan awal (fraksinasi) dengan metode ekstraksi cair cair (ECC).

ECC dilakukan untuk menyederhanakan komponen senyawa di dalam ekstrak. Ekstrak akan terpisahkan oleh pelarut berdasarkan kepolarannya sehingga menghasilkan 4 fraksi cair yaitu fraksi *n*-heksana, etil asetat, *n*-butanol, dan air. Dari hasil fraksinasi didapatkan bahwa fraksi *n*-heksana mendapatkan bobot fraksi tertinggi yang mana dapat diartikan bahwa bunga honje hutan memiliki kandungan senyawa non polar cukup besar. Masing masing fraksi dan ekstrak yang diperoleh dilakukan pemantauan aktivitas antioksidan dengan metode dinamolisis dan KLT. Berdasarkan hasil pemantauan, dengan bantuan penampak bercak DPPH 0,05% dalam metanol,

ekstrak dan seluruh fraksi bunga honje hutan positif memiliki aktivitas antioksidan yang ditunjukkan pada **Gambar 1**.

Adanya bercak atau lingkaran kuning berlatar belakang ungu terjadi karena adanya reaksi antara molekul radikal bebas (DPPH) dengan antioksidan yang terkandung pada bunga honje hutan. Dari pemantauan aktivitas antioksidan pada metode KLT yang tertera pada **Gambar 2**, diambil keputusan bahwa fraksi yang akan dilakukan isolasi adalah fraksi etil asetat (FEA).



Gambar 1. Uji dinamolisis (a) ekstrak etanol 96%, (b) fraksi *n*-heksana, (c) fraksi etil asetat

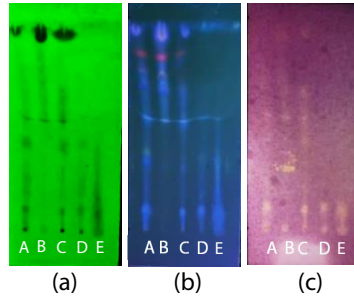
Penelitian mengenai kandungan isolat dari *Etlingera hemisphaerica* (Blume) R. M. Sm. sangat terbatas. Hasil penelitian pada bunga honje jenis *Etlingera elatior* (Jack) R. M. Sm. telah dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan yaitu pada ekstrak etanol dengan nilai IC_{50} sebesar 47,82 $\mu\text{g/mL}$ (Suwarni & Duwi Cahyadi, 2016). Penelitian selanjutnya dilaporkan pada fraksi etil asetat bunga honje hutan

memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} sebesar 29,81 $\mu\text{g/mL}$ (Irianti et al., 2019).

Penelitian tersebut sejalan dengan hasil penelitian yang diperoleh dari bunga honje hutan (*Etlingera hemisphaerica* (Blume) R.M.Sm.) didapatkan aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol 70% bunga honje hutan diperoleh informasi

bahwa memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} 389,055 $\mu\text{g/mL}$ (Fauziah, 2022).

Pemantauan Aktivitas Antioksidan Ekstrak dan Fraksi



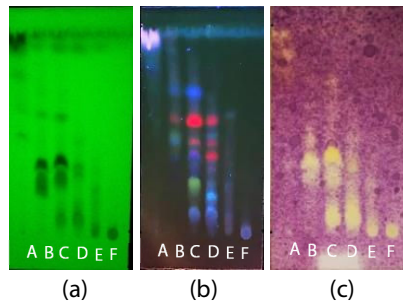
Gambar 2. Uji aktivitas antioksidan dengan KLT (a) diamati di bawah lampu UV 254 nm, (b) diamati di bawah lampu UV 366 nm, (c) diamati secara visual dengan bantuan penampak bercak DPPH 0,05%*b/v* dalam metanol

- Keterangan :
- A: Ekstrak etanol 96% bunga honje hutan
 - B: Fraksi *n*-heksana bunga honje hutan
 - C: Fraksi etil asetat bunga honje hutan
 - D: Fraksi *n*-butanol bunga honje hutan
 - E: Fraksi air bunga honje hutan

Fraksi etil asetat difraksinasi lanjut dengan metode kromatografi cair vakum (KCV). KCV bertujuan untuk memisahkan senyawa dalam fraksi menjadi komponen lebih sederhana akibat adanya aliran penyarian yang dalam proses pemisahannya dibantu oleh alat vakum untuk meningkatkan laju aliran fase gerak (Martiani et al., 2021). Proses elusi dilakukan secara bergradien

menggunakan pelarut non polar (*n*-heksana), semi polar (etil asetat), serta polar (metanol). Hasil pemisahan diperoleh 21 subfraksi dilakukan penggabungan pada subfraksi yang memiliki pola kromatogram yang sama dan memiliki aktivitas antioksidan. Berdasarkan kriteria diatas, diperoleh 6 fraksi gabungan yaitu A, B, C, D, E, dan F.

Pemantauan Aktivitas Antioksidan Subfraksi KCV



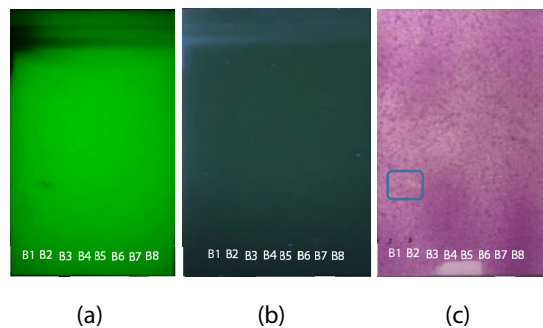
Gambar 3. Uji aktivitas antioksidan dengan KLT sub fraksi etil asetat (a) diamati di bawah lampu UV 254 nm, (b) diamati di bawah lampu UV 366 nm, (c) diamati secara visual dengan bantuan penampak bercak DPPH 0,05%b/v dalam metanol

Keterangan :
A : Fraksi etil asetat bunga honje hutan (A)
B : Fraksi etil asetat bunga honje hutan (B)
C : Fraksi etil asetat bunga honje hutan (C)
D : Fraksi etil asetat bunga honje hutan (D)
E : Fraksi etil asetat bunga honje hutan (E)
F : Fraksi etil asetat bunga honje hutan (F)

Sub fraksi etil asetat B dipilih untuk dilakukan proses pemisahan lebih lanjut menggunakan Kromatografi Lapis Tipis Preparatif (KLT-P). Sistem elusi yang digunakan adalah elusi berganda dengan fase gerak kloroform-metanol (9:1). Hasil

pemisahan sub fraksi B diperoleh 8 subfraksi (B1, B2, B3, B4, B5, B6, B7, B8) tetapi hanya subfraksi B2 yang memberikan hasil positif sebagai antioksidan dengan penyemprotan penampak bercak DPPH 0,05% b/v.

Pemantauan Aktivitas Antioksidan Subfraksi Etil Asetat



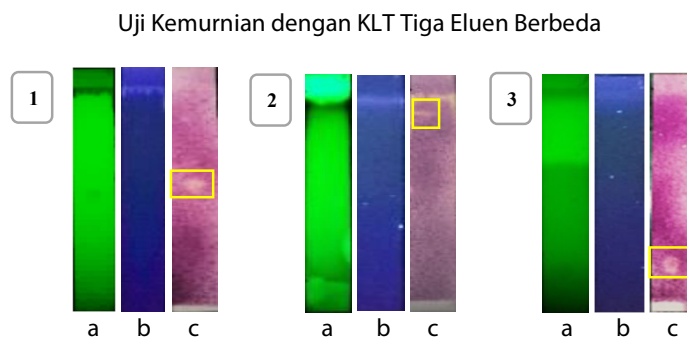
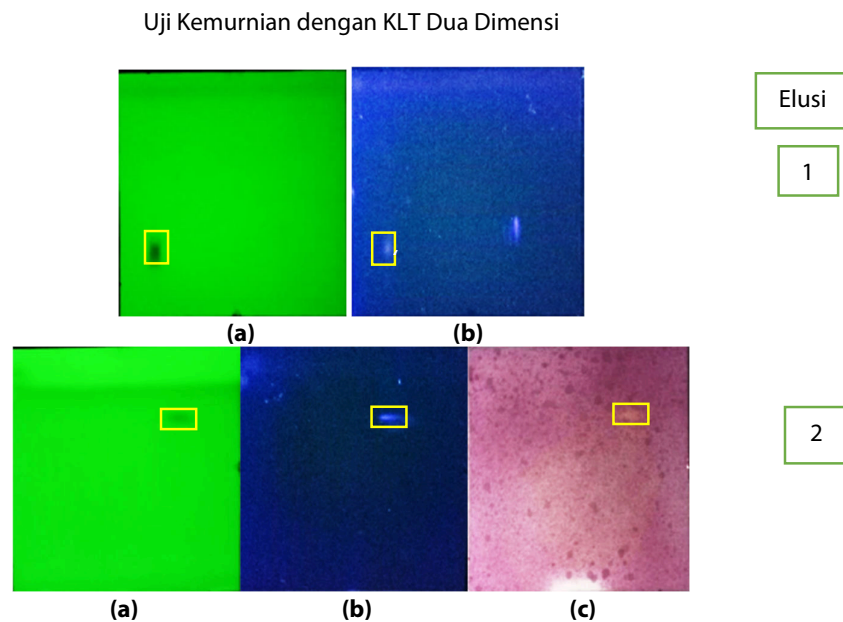
Gambar 4. Uji aktivitas antioksidan dengan KLT sub fraksi etil asetat (B) (a) diamati di bawah lampu UV 254 nm, (b) diamati di bawah lampu UV 366 nm, (c) diamati secara visual dengan bantuan penampak bercak DPPH 0,05%b/v dalam metanol

Isolat B2 yang didapat dilakukan uji kemurnian dengan metode KLT tiga pengembang berbeda dan KLT dua dimensi. Tujuan dari uji kemurnian adalah untuk memastikan serta memantau isolat yang diperoleh apakah sudah murni dan

tunggal. KLT dengan tiga eluen berbeda menggunakan fase gerak kloroform-metanol (85:15), etil asetat-asam format-air (7:1:1), serta toluene-etil asetat (8:2) menunjukkan spot tunggal relatif murni dengan nilai Rf 0,52; 0,90; 0,09. Ketiga

kromatogram tersebut menunjukkan adanya aktivitas antioksidan dari isolat dengan ditandai adanya spot berwarna kuning berlatar ungu karena dibantu oleh penampak bercak DPPH 0,05% b/v dalam metanol. Sedangkan pada KLT dua dimensi digunakan fase gerak kloroform-metanol (9:1) dan etil asetat-asam format-air (7:1:1) menunjukkan spot tunggal pada

Rf 0,17 dan 0,75. Uji kemurnian KLT dua dimensi dilakukan penyemprotan dengan penampak bercak H_2SO_4 5% dalam metanol, sitroborat, dan DPPH 0,05%b/v, dihasilkan satu spot tunggal dengan hasil reaksi positif pada DPPH 0,05%b/v yang menunjukkan isolat memiliki aktivitas antioksidan. Hasil uji kemurnian isolat dapat dilihat pada **Gambar 3**.



Keterangan: (a) diamati di bawah lampu UV 254 nm, (b) diamati di bawah lampu UV 366 nm, (c) diamati secara visual dengan penampak bercak DPPH 0,05%b/v.

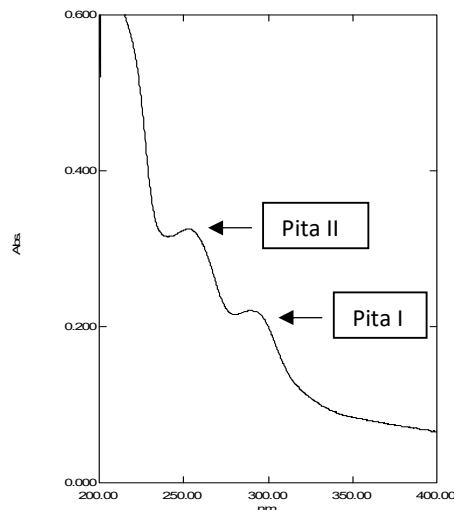
- (1) : Pemantauan isolat dengan fase gerak kloroform-metanol (85:15)
- (2) : Pemantauan isolat dengan fase gerak etil asetat-asam format-air (7:1:1)
- (3) : Pemantauan isolat dengan fase gerak toluene-etilasetat (8:2)

Gambar 5. Uji kemurnian isolat KLT dua dimensi dan KLT tiga pengembangan berbeda

Isolat B2 dilakukan identifikasi secara kualitatif menggunakan metode spektrofotometer *UV-Visible* untuk mengetahui panjang gelombang

maksimum dari isolat B2. Berdasarkan hasil pengukuran diperoleh adanya dua pita serapan pada panjang gelombang 290,60 nm (Pita I) dan 250,20 nm (Pita II)

yang merupakan ciri khas dari senyawa flavonoid yang terlihat pada **Gambar 6**.



Gambar 6. Spektrum isolat B2

Hasil identifikasi kualitatif dengan spektrofotometri UV-Visible ini selaras dengan penelitian identifikasi awal mengenai kandungan metabolit sekunder pada bunga honje hutan yang dilaporkan sebelumnya bahwa bunga honje hutan mengandung senyawa flavonoid (Riyanti et al., 2023).

Spektrum khas flavonoid terdiri atas dua pita pada rentang 240-285 nm (pita II) serta 300-550 nm (Pita I) (Markham, 1988). Kedudukan dari gugus hidroksil pada inti flavonoid dapat diidentifikasi dengan penambahan beberapa pereaksi geser ke dalam larutan sampel dan diamati pergeseran serapan yang terjadi. Hasil pengujian pada isolat B2 dengan penambahan pereaksi geser NaOH 2M tidak terjadi pergeseran yang berarti sehingga dapat diinterpretasikan bahwa tidak adanya gugus hidroksil (OH) pada C3. Sedangkan isolat B2 dengan penambahan pereaksi geser AlCl_3/HCl menunjukkan bahwa pita I dan pita II dari

isolat B2 tidak terdapat pergeseran. Hal ini diinterpretasikan bahwa tidak adanya gugus OH pada C5 senyawa flavonoid. Penambahan pereaksi geser natrium asetat dan asam borat tidak menunjukkan adanya pergeseran yang berarti sehingga tidak dapat diinterpretasikan sehingga berdasarkan hasil analisis tersebut diduga isolat B2 merupakan senyawa flavonoid golongan flavon.

Senyawa flavonoid telah dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan diantaranya kuersetin, rutin, naringenin dengan nilai IC_{50} setara maupun mendekati vitamin C (asam askorbat). Flavonoid dapat dikatakan sebagai antioksidan karena keberadaan gugus hidroksi (OH) pada senyawa flavonoid dapat menangkal radikal bebas di dalam tubuh. Selaras dengan masa endemik COVID-19 dalam upaya meningkatkan sistem kekebalan tubuh masyarakat membutuhkan vitamin C sebagai antioksidan. Berdasarkan hal tersebut adanya penelitian awal

mengenai potensi bunga honje hutan sebagai antioksidan alami diharapkan kedepannya bunga honje hutan dapat dikembangkan menjadi pangan fungsional atau herbal antioksidan untuk meningkatkan taraf kesehatan masyarakat Indonesia.

4. KESIMPULAN

Bunga honje hutan (*Etlingera hemisphaerica* (Blume) R. M. Sm.) mengandung senyawa polifenol, flavonoid, kuinon, steroid, seskuiterpen. Ekstrak, fraksi, dan isolat bunga honje hutan menunjukkan adanya aktivitas antioksidan berdasarkan pemantauan KLT dengan penampak bercak DPPH 0,05%*b/v*. Isolat B2 yang diperoleh memiliki dua panjang gelombang yaitu pita I 290,60 nm dan pita II 250,20 nm yang diduga merupakan senyawa flavonoid golongan flavon.

5. UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih kepada PT. Indofood Sukses Makmur Tbk yang telah memberikan dana hibah penelitian ini dalam kegiatan Indofood Riset Nugraha periode 2021/2022. Artikel ini merupakan bagian dari penelitian skripsi Sarjana Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Jenderal Achmad Yani serta riset penelitian Indofood Riset Nugraha (IRN) dibawah naungan PT. Indofood Sukses Makmur Tbk.

DAFTAR PUSTAKA

Anggraeni, R. (2019). Uji Karakteristik Simplisia Buah Andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC.). *Jurnal Ilmiah Farmasi Imelda*, 3(2), 34–40.

Farnsworth. (1966). Biological and Phytochemical Screening of Plants.

Journal of Pharmaceutical Sciences, 55(3), 225–276.

- Fauziah, N. (2022). *Aktivitas Antioksidan Daun, Batang, dan Bunga Honje Hutan (Etlingera hemisphaerica (Blume) R. M. Sm.) dengan Metode DPPH*. Universitas Jenderal Achmad Yani.
- FHI. (2017). *Farmakope Herbal Indonesia (III)*. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Irianti, T., Purnomo, H., Kuswandi, K., Nuranto, S., Kanistri, D. N., Murti, Y. B., & Farida, S. (2019). Uji Penangkapan Radikal 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) oleh Ekstrak Etanol Bunga Kecombrang (*Nicolaia speciosa* (Bl.) Horan) dan Buah Talok (*M. calabura* L.). *Jurnal Tumbuhan Obat Indonesia*, 12(1), 41–53.
- Markham, K. R. (1988). *Cara Mengidentifikasi Flavonoid* (5th ed.). Penerbit ITB Bandung.
- Nababan, N. C., Muslim, Choirul., & Ruyani, A. (2015). Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Honje Hutan *Etlingera hemisphaerica* (Blume) R. M. Sm. terhadap Gejala Parkinsonisme pada Mencit *Mus musculus* L. (1758) Swiss Webster yang Telah disuntik Paraquat. *Prosiding Semirata*, 268–283.
- Ningsih, D. A., Ramadhan, A. M., & Rusli, R. (2019). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Belimbing Hutan (*Cnestis palala*(Lour). Merr) Asal Kalimantan Timur. *Jurnal Sains Dan Kesehatan*, 2(1), 18–24.
- Nurdyansyah, F., Widyastuti, D. A., & Mandasari, A. A. (2019). Karakteristik Simplisia dan Ekstrak Etanol Kulit Petai (*Parkia speciosa*) dengan Metode Maserasi. *Prosiding Seminar Nasional Sains Dan Enterpreneurship VI Tahun 2019*.
- Riyanti, S., Agustian, N., & Syam, A. K. (2023). Potency of Honje Hutan Flowers (*Etlingera Hemisphaerica* (Blume) R.M.Sm.) as Alpha-Glucosidase Inhibitor. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology*, 10(1), 52–58.

- Sukandar, D., Radiastutu, N., Jayanegara, I., Muawanah, A., & Hudaya, D. A. (2011). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kasar Air Bunga Kecombrang (*Etlingera elatior*) sebagai Bahan Pangan Fungsional. *Jurnal Kimia Terapan*.
- Sutomo, S., Agustina, N., Arnida, A., & Fadilaturrehman, F. (2017). Studi Farmakognostik dan Uji Parameter Nonspesifik Ekstrak Metanol Kulit Batang Kasturi (*Mangifera casturi* Kosterm.). *Jurnal Pharmascience*, 4(1), 94–101.
- Suwarni, E., & Duwi Cahyadi, K. (2016). Aktivitas Antiradikal Bebas Ekstrak Etanol Bunga Kecombrang (*Etlingera elatior*) dengan Metode DPPH. *Jurnal Ilmiah Medicamento*, 2(2), 2356–4814.



Copyright © 2023 The author(s). You are free to **Share** — copy and redistribute the material in any medium or format. **Adapt** — remix, transform, and build upon the material. Under the following terms: **Attribution** — You must give appropriate credit, provide a link to the license, and indicate if changes were made. You may do so in any reasonable manner, but not in any way that suggests the licensor endorses you or your use. **NonCommercial** — You may not use the material for commercial purposes. **ShareAlike** — If you remix, transform, or build upon the material, you must distribute your contributions under the same license as the original. **No additional restrictions** — You may not apply legal terms or technological measures that legally restrict others from doing anything the license permits.