



RESEARCH ARTICLE

ISOLASI DAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN SENYAWA METABOLIT SEKUNDER EKSTRAK DCM DAUN UNGU (*Graptophyllum pictum* L. (Griff))

Enda Mora^{1*}, Rahma Dona¹, M.Almurdani¹, Syairah Afrani¹

¹Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Riau; Jalan Kamboja, Kelurahan Simpang Baru, Pekanbaru, 28293

*e-mail korespondensi: endamora@stifar-riau.ac.id

Article History

Received:

29 September 2025

Accepted:

30 Oktober 2025

Published:

7 November 2025

ABSTRAK

Telah dilakukan isolasi senyawa metabolit sekunder dari ekstrak DCM daun ungu (*Graptophyllum pictum* Griff). Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi senyawa metabolit sekunder dari ekstrak DCM daun ungu dan mengevaluasi aktivitas antioksidannya. Ekstraksi dilakukan menggunakan metode maserasi bertingkat, dilanjutkan dengan pemisahan melalui kromatografi kolom *flash* dan pemurnian dilakukan dengan cara dekantasi dan rekristalisasi sehingga menghasilkan isolat dari fraksi gabungan yang diberi label isolat GPD-1. Isolat dikarakterisasi secara organoleptis yang diperoleh berupa padatan serbuk berwarna putih, berbau tajam, titik leleh 210-212°C, larut dalam DMSO dan metanol yang ditambahkan etil asetat. Identifikasi isolat GPD-1 menggunakan pereaksi penampak noda anisaldehyd menunjukkan isolat GPD-1 merupakan golongan steroid dan hasil karakterisasi FT-IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR dan HSQC menunjukkan golongan steroid yang diprediksi dengan nama *Stigmasta-5,22-dien-3β-O-D-glucopyranoside*. Pengujian Aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode DPPH untuk menentukan nilai IC₅₀ dari ekstrak dan isolat. Hasil pengujian aktivitas antioksidan menunjukkan bahwa ekstrak DCM daun ungu dan isolat GPD-1 tidak memiliki potensi sebagai aktivitas antioksidan dengan hasil nilai IC₅₀ yang diperoleh yaitu > 1000 µg/mL.

Kata Kunci: Daun ungu (*Graptophyllum pictum* Griff), DPPH, isolasi, *stigmasta-5,22-dien-3β-O-D-glucopyranoside*.

ABSTRACT

Secondary metabolite compound has been isolated from purple (*Graptophyllum pictum* Griff) leaf DCM extract. This research aims to isolate secondary metabolite compound from purple leaf dichloromethane extract and evaluate its antioxidant activity. Extraction is carried out using the multi-layered maceration method, followed by separation through flash column chromatography and purification is carried out by decantation and recrystallization so as to produce isolates from the combined fraction which are labeled GPD-1 isolate. Isolates are characterized organoleptically which are obtained in the form of a white powdery solid, sharp odor, melting point of 210-212°C, soluble in DMSO and methanol with added ethyl acetate. identification of GPD-1 isolate using anisaldehyde staining reagent shows that GPD-1 isolate is a steroid group and the results of FT-IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR and HSQC characterize the steroid group predicted under the name *Stigmasta-5,22-dien-3β-O-D-glucopyranoside*. Antioxidant Activity Testing is carried out with the DPPH method to determine the IC₅₀ value of extracts and isolates. The results of antioxidant activity testing show that DCM extract of purple leaves and GPD-1 isolate do not have the potential as antioxidant activity with the result of IC₅₀ values obtained > 1000 µg/mL.

Keywords: Purple (*Graptophyllum pictum* Griff) leaf, DPPH, isolation, *stigmasta-5,22-dien-3β-O-D-glucopyranoside*

©Mora *et al.*

This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

PENDAHULUAN

Isolasi adalah proses pengambilan atau pemisahan senyawa bahan alam dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Isolasi senyawa antioksidan merupakan tahapan untuk menemukan bahan alam dari tumbuhan yang berpotensi sebagai senyawa aktif farmakologis. Salah satu spesies tumbuhan yang banyak digunakan dalam pengobatan dan memiliki aktivitas sebagai antioksidan adalah daun ungu (*Graptophyllum pictum* L. (Griff)), dari family *Acanthaceae*. Daun ungu (*Graptophyllum Pictum*) adalah tanaman obat yang telah lama dikenal dalam pengobatan tradisional di Indonesia. Tanaman ini telah

banyak digunakan oleh masyarakat di daerah-daerah Indonesia untuk mengobati berbagai penyakit, tetapi juga memiliki potensi sebagai sumber senyawa bioaktif yang dapat dikembangkan untuk produk kesehatan (Fajrianti *et al.*, 2024).

Daun ungu juga sudah dipakai turun temurun dan tidak memberikan efek toksik. Penelitian yang melakukan standarisasi daun ungu adalah (Cahyanda *et al.*, 2025), dengan hasil penelitian terhadap simplisia daun ungu adalah kadar abu tidak dari 12%, kadar abu tidak larut dalam asam tidak lebih dari 2%, kadar sari larut dalam air tidak kurang dari 29%, dan kadar sari larut

dalam etanol tidak kurang dari 6%. Hasil standarisasi ini memenuhi standar Departemen Kesehatan RI (2009).

Metabolit sekunder merupakan biomolekul yang dapat digunakan sebagai *lead compounds* dalam penemuan dan pengembangan obat-obat baru (Atun, 2010). Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa daun ungu salah satu obat tradisional yang banyak digunakan oleh suku bangsa diseluruh Indonesia dan Asia, sehingga menjadi hal menarik untuk diteliti kandungan metabolit sekundernya termasuk bagian ekstrak non polar. Hal ini akan melihat korelasi antara pemakaian tradisional dengan komponen metabolit sekundernya dengan khasiat yang diharapkan oleh Masyarakat. Kemudian juga perlunya melihat aktivitas antioksidannya sehingga dapat memperkuat pemakaian terapi tradisional dari daun ungu (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff). Bagian tanaman yang akan diisolasi yaitu bagian daun karena daun merupakan bagian tumbuhan yang sering dimanfaatkan masyarakat sebagai obat tradisional.

Berdasarkan penelitian sebelumnya, ekstrak etanol 96% dan fraksi kloroform daun ungu, etil asetat, dan n-butanol daun ungu mengandung metabolit sekunder berupa flavonoid sebesar 402,88; 98,14; 374,45 dan 345,95 mg/100 g QE, dengan aktivitas antioksidan untuk mereduksi radikal bebas DPPH dengan nilai IC₅₀ masing-masing sebesar 83,25; 271,04; dan 385,82 ppm. Hasil penelitian ekstrak Daun Ungu dengan dosis 100 mg/kgBB memberikan efek antioksidan dan antiinflamasi pada hemoroid buatan yang dilakukan dengan induksi anal tikus menggunakan minyak puring melalui penurunan kadar COX-2 dan peningkatan kadar SOD (Riwanto *et al.*, 2020). Uji ekstrak etanol daun ungu juga memperlihatkan adanya aktivitas antibakteri pada dental gingivitis (Dhywinanda *et al.*, 2020) dan aktif terhadap bakteri *S. Aureus* (Arista *et al.*, 2023).

Radikal bebas bertanggung jawab atas kerusakan oksidatif biomolekul seperti protein, lipid, atau asam nukleat dalam struktur inti sel dan membran molekuler. Menjaga keseimbangan antara radikal bebas dan antioksidan merupakan prasyarat untuk tetap sehat. Artinya pengendalian proses stres oksidatif dapat menjadi hal mendasar dalam pencegahan dan pengobatan banyak penyakit, seperti diabetes, aterosklerosis, penyakit arteri koroner, kanker, peradangan, penyakit hati, penyakit kardiovaskular, katarak, nefrotoksisitas, dan proses neurodegeneratif yang menyertai penuaan. Untuk mempertahankan homeostasis redoks, radikal bebas berlebih dinetralkan oleh enzim dan antioksidan non-enzimatik Manusia dapat memproduksi senyawa-senyawa yang dapat berperan aktif dalam menanggulangi radikal bebas, seperti enzim superoksida dismutase dan glutathione namun jumlahnya sering sekali tidak mencukupi. Oleh sebab itu dibutuhkan asupan makanan yang mengandung antioksidan seperti vitamin C, E, betakaroten, maupun antioksidan lain dari tumbuhan sehingga dapat melindungi dari serangan radikal bebas.

Namun, jika terjadi paparan radikal bebas yang berlebihan, tubuh membutuhkan antioksidan eksogen. Penggunaan antioksidan dari bahan alami dianggap lebih aman. Tanaman ungu (*Graptophyllum pictum* L. Griff) merupakan salah satu tanaman yang berkhasiat sebagai tanaman obat dan diketahui mengandung metabolit sekunder berupa alkaloid, flavonoid, terpenoid dan steroid, aktif sebagai antioksidan (Makkiyah, 2023). Tanaman ungu bisa dijadikan sebagai pilihan dalam pengobatan untuk antioksidan.

Berdasarkan uraian di atas, terdapat potensi yang besar ditemukannya senyawa metabolit sekunder pada tanaman daun ungu yang dapat dijadikan sebagai senyawa aktif dalam bidang farmasi termasuk dari fraksi nonpolar. Oleh karena itu, peneliti ingin mengisolasi dan menguji aktivitas antioksidan senyawa isolat dari fraksi DCM.

METODE PENELITIAN

Alat

Alat yang digunakan adalah satu unit alat destilasi (*Gopal*[®]), satu unit *rotary evaporator* (*Buchi*[®]), neraca analitik (*Shimadzu*[®]), plat tetes, tabung reaksi dan rak tabung, corong, plat KLT 254 (*Millipore*[®]), lampu UV penampak noda 254 nm dan 366 nm (*Camag*[®]), kolom kromatografi (*Pyrex*[®]), *Stuart Melting Point* (SMP-11), chamber (*Pyrex*[®]), ultrasonikasi (*Kudos*[®]), *microplate reader* 96 (*Epoch BioTek*), spektrofotometer IR (*Shimadzu*[®] IR Spirit), *Nuclear Magnetic Resonance* (*Agilent*, 500 MHz), dan peralatan gelas di laboratorium

Bahan

Sampel yang digunakan adalah daun ungu (*Graptophyllum pictum* Griff). Bahan lain yang digunakan adalah pelarut organik teknis yang telah didestilasi yaitu n-Heksana, DCM, etil asetat dan metanol, plat silica gel 60 (70-230 mesh) (*Millipore*[®]), kloroform, kloroform amoniak 0,05 N, asam klorida pekat, logam magnesium (Mg), FeCl₃ 1%, asam sulfat (H₂SO₄) 2N, norit, pereaksi mayer, pereaksi *Liebermann-Burchard*, asam asetat anhidrat, AlCl₃ 10%, anisaldehyd, asam askorbat, dan 1,1-*diphenyl-2-picrylhydrazyl* (DPPH).

Prosedur

Pengambilan Sampel Tanaman

Sampel daun ungu (*Graptophyllum pictum* Griff) diperoleh di kampus Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Riau, Kecamatan Bina Widya, Kota Pekanbaru, Riau. Tanaman daun ungu digunakan sebanyak 5 Kg.

Identifikasi Sampel Tumbuhan

Daun ungu diidentifikasi di Laboratorium Botani Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Riau, Pekanbaru.

Skrining Fitokimia Daun Ungu Segar

Sampel segar daun ungu dan ekstrak dilakukan skrining fitokimia alkaloid dengan pereaksi Mayer dan Dragendorff, saponin, fenolik dan flavonoid dengan HCL dan logam Mg, terpenoid dan steroid dengan pereaksi *Liebermann Bourchard*.

Pembuatan Ekstrak DCM Daun Ungu

Ekstraksi simplisia dilakukan dengan metoda maserasi bertingkat menggunakan pelarut *n*-Heksana, DCM, dan etil asetat. Serbuk simplisia dimaserasi dalam botol gelap dengan pelarut *n*-Heksana hingga terendam sempurna pada suhu kamar terlindung cahaya matahari. Proses perendaman dilakukan selama 3 hari dalam 3 kali pengulangan sambil diultrasonikasi selama 15 menit. Setiap tiga hari dilakukan penyaringan dan sampelnya dimaserasi dengan pelarut berikutnya yakni DCM, sambil diultrasonikasi selama 15 menit. Maserat yang dihasilkan dilakukan proses penarikan pelarutnya dengan menggunakan vacuum rotary evaporator pada suhu 50°C dengan tekanan vakum sebesar 200 mbar, dan didapatkan ekstrak kental DCM.

Pengujian KLT Ekstrak non polar

Plat KLT ukuran 8-10 cm x 1 cm ditotolkan ekstrak non polar daun ungu pada plat yang telah diberi tanda titik pada garis bawah kemudian dielusi dengan berbagai perbandingan eluen sehingga didapatkan pola pemisahan yang baik dengan lampu UV pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm.

Isolasi Metabolit Sekunder dari Ekstrak DCM dengan Metode Kromatografi Kolom Flash.

Pada metode ini fase diam yang digunakan berupa silika gel 60 (70-230 mesh), sementara itu fase gerak yang digunakan dipilih berdasarkan tingkat kepolaran (*step gradient polarity*). Preparasi kolom dilakukan dengan cara membuat bubuk silika dengan merendam silika sebanyak 200 g dengan pelarut *n*-Heksan, selanjutnya dimasukkan ke dalam kolom yang bagian bawahnya sudah disumbat dengan silika padat.

Ekstrak yang sudah dipreabsorpsi dimasukkan dalam kolom kemudian dielusi secara bergradien dimulai dengan menggunakan pelarut *n*-Heksan 100% perbandingan *n*-Heksan:DCM, perbandingan DCM: etil asetat hingga metanol 100%. Eluen yang keluar diatur kecepatan laju alirnya, kemudian setiap eluen yang dihasilkan ditampung dalam vial 25 ml dan diberi nomor. Proses pengelusan sesuai dengan perbandingan eluen, dan gas dihidupkan agar proses pengelusan lebih cepat. Hasil pemisahan ditampung dalam vial diperoleh sebanyak 420 vial.

Pemurnian Senyawa Isolat

Fraksi yang didapat dilakukan uji KLT untuk mengidentifikasi pemisahan yang telah dilakukan. Fraksi yang diuji KLT adalah fraksi dengan kelipatan 5. Kemudian fraksi dengan noda yang sama digabungkan dalam vial hingga didapatkan 28 fraksi vial gabungan.

Selanjutnya dilakukan pemurnian senyawa isolat dengan cara dekantasi, setelah itu, dilanjutkan dengan rekristalisasi, dan terbentuk endapan yang sudah tidak berwarna lagi dibiarkan mengering sehingga didapat senyawa murni. Senyawa murni yang didapat diberi label dan dilakukan pengujian kembali dengan KLT di bawah lampu UV dengan panjang gelombang 254 nm dan 366 nm. Pada penelitian ini diperoleh senyawa murni dari vial fraksi gabungan 27 dari ekstrak DCM dengan nama isolat GPD-1.

Identifikasi Senyawa Isolat

Senyawa isolat yang telah murni diidentifikasi lebih lanjut meliputi pemeriksaan organoleptis, sifat fisika berupa titik leleh, sifat kimia dengan pereaksi warna dan dilakukan analisis spektroskopi.

Pemeriksaan Sifat Kimia

Pemeriksaan dilakukan dengan mereaksikan senyawa tersebut dengan pereaksi tertentu yang menunjukkan golongan senyawa metabolit sekunder (skrining fitokimia). Pemeriksaan dapat dilakukan dengan reaksi warna menggunakan pereaksi yang sesuai.

Analisis Spektroskopi

Isolat GPD-1 yang diperoleh dilakukan analisis spektroskopi dengan menggunakan spektrofotometer FT-IR, spektrofotometri ¹H NMR, ¹³C NMR dan HSQC.

Analisis Spektrofotometer Fourier Transform - Infra Red (FT-IR)

Isolat GPD-1 dimasukkan ke dalam lubang sampel. Kemudian dilakukan pengukuran pada panjang gelombang 400-4000 cm⁻¹. Spektrum yang didapat selanjutnya diinterpretasikan.

Analisis Spektrometri Nuclear Magnetic Resonance

Pengukuran NMR dapat dilakukan dengan cara 1D NMR dan 2D NMR. Analisis 1D NMR adalah analisis menggunakan ¹H-NMR dan ¹³C-NMR. Daerah pengukuran pergeseran kimia ¹H-NMR adalah δH 0-14 ppm, sedangkan daerah pengukuran pergeseran kimia ¹³C-NMR adalah pada δC 0-230 ppm. Pengukuran 2D NMR dalam penentuan struktur senyawa isolat GPH-1 menggunakan analisis pengukuran HSQC. Analisis spektrum HSQC bertujuan untuk mengetahui korelasi antara proton dan karbon dalam satu ikatan. Pada pengukuran NMR ini isolat GPD-1 dianalisis dengan pelarut DMSO.

Pengujian Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

Konsentrasi larutan DPPH yang digunakan pada sampel yaitu 80 mg/mL dengan serapan pada 517 nm. Berdasarkan hasil pengujian aktivitas antioksidan senyawa isolat GPD-1 dengan konsentrasi uji 1000; 500; 250; 125; 62,5 dan 31,25 μ g/mL, diperoleh nilai absorbansi DPPH (kontrol) sebesar 0,277, dimana nilai tersebut termasuk kedalam kategori nilai absorbansi yang baik.

Persiapan Sampel

Ekstrak kental DCM daun ungu serta isolat GPD-1 ditimbang masing-masing sebanyak 10 mg dan 2 mg, kemudian dilarutkan dengan metanol p.a sehingga didapatkan larutan induk dengan konsentrasi 1000 mg/mL. Pengujian dilakukan dengan 6 seri konsentrasi, yaitu 1000 µg/mL; 500 µg/mL; 250 µg/mL; 125 µg/mL; 62,5 µg/mL dan 31,25 µg/mL. Variasi konsentrasi uji disiapkan melalui pengenceran bertingkat di dalam 96 wells microplate.

Pembuatan Larutan Vitamin C

Asam askorbat ditimbang tepat 10 mg dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL lalu dilarutkan dengan etanol sampai tanda batas sehingga didapatkan konsentrasi 1000 µg/mL. Larutan tersebut dipipet sebanyak 1 mL ke dalam labu ukur 10 mL lalu ditambahkan etanol sampai tanda batas sehingga diperoleh larutan asam askorbat dengan konsentrasi 100 µg/mL. Larutan uji asam askorbat dibuat dengan 6 variasi konsentrasi 100; 50; 25; 12,5; 6,25; dan 3,125 µg/mL. Pengenceran bertingkat dilakukan pada 96 well microplate.

Pembuatan Larutan DPPH

Pada pengujian, larutan induk DPPH dibuat dengan cara yang sama seperti diatas, sehingga diperoleh larutan induk 1000 µg/mL. Kemudian diencerkan menjadi konsentrasi 80 µg/mL.

Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak DCM Daun Ungu dan Isolat GPD-1

Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode DPPH menggunakan microplate reader mengikuti metode yang telah dilakukan Kedare dan Singh (2011). Baris A dimasukkan masing-masing ekstrak dan isolat GPD-1 bergantian sebanyak 100 µL pada microplate yang berbeda. Tambahkan metanol 50 µL pada masing-masing baris B-H. Baris A dipipet sebanyak 50 µL lalu dimasukkan ke baris B, dari baris B dipipet 50 µL dan dimasukkan ke baris C dan begitu seterusnya sampai pada baris F. pada baris F dipipet 50 µL dan dibuang. Baris G dan H diisi dengan pelarut metanol 50 µL, kemudian baris A-G ditambahkan DPPH konsentrasi 80 µg/mL sebanyak 40 µL. Lalu larutan uji dibiarkan selama 30 menit pada suhu ruangan dan terhindar dari cahaya. Selanjutnya, absorbansi larutan uji diukur pada panjang gelombang 517 nm dengan microplate reader. Aktivitas penangkapan radikal bebas ditandai dengan terjadinya penurunan absorbansi.

Analisis Data

Perhitungan % inhibisi

Aktivitas antioksidan sampel ditentukan oleh besarnya hambatan serapan radikal DPPH melalui perhitungan persen % inhibisi dengan rumus sebagai berikut (Molyneux, 2004).

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{A_{\text{kontrol}} - A_{\text{sampel}}}{A_{\text{kontrol}}} \times 100\%$$

Keterangan:

A_{kontrol} = Absorbansi DPPH

A_{sampel} = Absorbansi DPPH dalam larutan sampel

Penentuan Nilai IC₅₀

Setelah diperoleh persentase inhibisi dari masing-masing konsentrasi, selanjutnya dibuat kurva dengan menghubungkan nilai ln konsentrasi (sumbu x) dengan nilai persen inhibisi (sumbu y) sehingga diperoleh persamaan regresi linear:

$$y = ax \pm b$$

Keterangan:

Y = % inhibisi

X = Ln konsentrasi sampel

a = Slope

b = Intercept

Aktivitas antioksidan dinyatakan dengan Inhibition Concentration 50% (IC₅₀) yaitu konsentrasi sampel yang dapat meredam radikal DPPH sebanyak 50%. Nilai IC₅₀ diperoleh dari nilai x setelah mengganti y pada persamaan tersebut dengan angka 50. IC₅₀ yang diperoleh dibandingkan dengan IC₅₀ vitamin C.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi

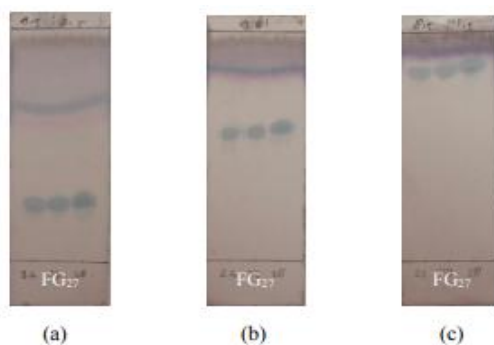
Pada penelitian ini dilakukan skrining fitokimia terhadap ekstrak DCM mengandung steroid dan terpenoid. Hasil maserasi simplisia kering diperoleh ekstrak DCM yang berwarna hijau kehitaman sebanyak 14 g dengan % rendemen 1,4%. Hasil KLT ekstrak DCM memisah dengan baik pada perbandingan eluen N-Heksan : DCM (2 : 8).

Proses pemisahan atau isolasi metabolit sekunder dilakukan dengan Kromatografi kolom flash merupakan teknik pemisahan suatu sampel yang memakai bantuan tekanan gas nitrogen untuk mendorong pelarut melalui kolom dari fase diam (Willian dan Sand, 2009). Pada metode ini fase diam yang digunakan berupa silika gel 60 (70-230 mesh), sedangkan fase gerak bergradien atau dipilih berdasarkan tingkat kepolarannya.

Proses pengelusan dilakukan berdasarkan metode SGP (Step Gradient Polarity) dimulai dari eluen n-Heksan 100% kemudian ditingkatkan kepolarannya menjadi campuran n-Heksan dan DCM (8:2), (7:3), (6:4), (5:5) sampai dengan DCM 100% kemudian dilanjutkan hingga metanol 100%. Pengelusan dimulai dari n-Heksan 100% dikarenakan pelarut ini memungkinkan untuk melarutkan atau menarik senyawa-senyawa non polar yang ada dalam sampel dan akan turun dengan

eluen non polar, senyawa semi polar akan turun dengan eluen semi polar dan senyawa polar akan turun dengan eluen polar. Proses pengelusan dibantu dengan tekanan gas nitrogen agar proses lebih cepat, kemudian hasil pemisahan yang didapat akan ditampung dalam vial hingga diperoleh sebanyak 420 vial.

Tahap selanjutnya fraksi yang diperoleh dilakukan uji KLT, dengan kelipatan 5, noktak KLT dilihat di bawah lampu UV dengan λ 254 nm dan λ 366 nm. Pada penelitian ini didapat 28 fraksi gabungan, dan diamati yang membentuk endapan senyawa atau kristal. Fraksi pilihan dilakukan proses pemurnian senyawa dengan cara proses washing dan rekiritalisasi. Kemudian senyawa tersebut dimonitor kembali melalui plat KLT dibawah lampu UV pada panjang gelombang λ 254 nm dan λ 366 nm atau menggunakan penampak noda anisaldehyd. Hasil profil KLT dengan 3 jenis eluen DCM: metanol (9,5:0,5), DCM: metanol (9:1), DCM: metanol (8,5:1,5) sebagaimana dapat dilihat pada **Gambar 1**, diperoleh noktah atau noda tunggal. Senyawa tersebut diberi label untuk ekstrak DCM diberi nama GPD-1 (Oktavia and Sutoyo, 2021).

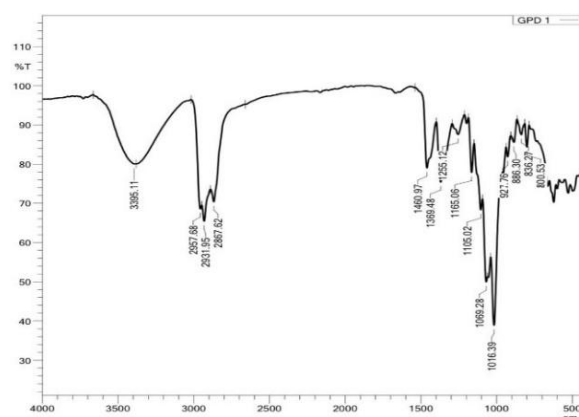


Gambar 1. Profil Kromatografi Lapis Tipis Isolat GPD-1 dengan Berbagai Perbandingan Eluen

Selanjutnya senyawa isolat GPD-1 diidentifikasi melalui pemeriksaan organoleptis, pemeriksaan sifat fisika dan pemeriksaan sifat kimia. Hasil pemeriksaan organoleptis menunjukkan bahwa senyawa isolat GPD-1 berbentuk padatan serbuk, berwarna putih yang memiliki bau dan larut dalam DMSO. Kemudian dilakukan pengujian sifat fisika dengan melakukan pengukuran titik leleh senyawa isolat menggunakan Stuart Melting Point Apparatus (SMP-11) dan diperoleh titik leleh senyawa isolat GPD-1 yaitu sebesar 210-212°C. Suatu senyawa dikatakan murni apabila jarak titik lelehnya antara 1-2°C. Selanjutnya isolat GPD-1 dilakukan pengujian terhadap pereaksi *Liebermann-Burchard* yang ditandai dengan reaksi perubahan warna menjadi kuning yang berarti merupakan golongan steroid.

Berdasarkan hasil spektrum FT-IR pada isolat GPD-1 dari ekstrak DCM daun ungu (*Graptophyllum pictum* L.Griff) sebagaimana dapat dilihat pada **Gambar 2**, terdeteksi beberapa bilangan gelombang khas yang mengindikasikan keberadaan gugus fungsi tertentu. Pita

serapan kuat pada 3395,11 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus OH yang berikatan hidrogen antarmolekul, sedangkan serapan tajam pada 2957,68; 2931,95; dan 2867,62 cm^{-1} mengindikasikan gugus C-H alifatik. Adanya serapan pada 1460,97 cm^{-1} dan 1369,48 cm^{-1} menunjukkan keberadaan ikatan C=C aromatik serta C-H tekuk alifatik. Selain itu, pita serapan tajam pada 1105,02; 1069,28; dan 1016,39 cm^{-1} menandakan adanya gugus C-O dari alkohol sekunder. Hasil interpretasi ini sesuai dengan data literatur yang menyebutkan bahwa gugus -OH dan C-O merupakan karakteristik umum pada senyawa golongan steroid glikosida. Dengan demikian, data FT-IR mendukung bahwa isolat GPD-1 mengandung gugus fungsi utama yang khas dari struktur steroid, yang kemudian diperkuat oleh hasil analisis spektroskopi NMR pada penelitian ini (South, 2022; Alauhdin et al., 2021).

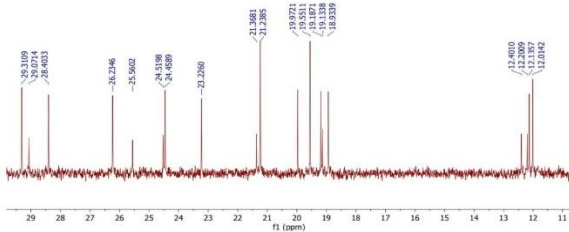


Gambar 2. Spektrum FT-IR isolat GDP-1

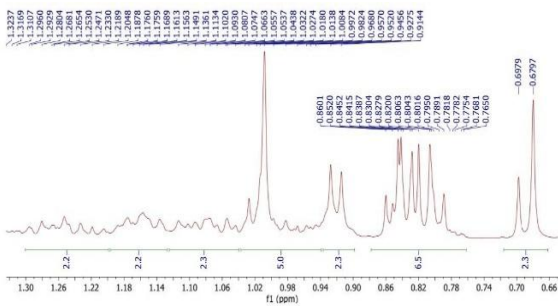
Pada penelitian ini dilakukan analisis spektrofotometer $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$ dan HSQC dengan tujuan untuk mengidentifikasi struktur molekul serta menentukan jumlah dan jenis atom yang terhubung dalam suatu molekul. Berdasarkan data hasil $^{13}\text{C-NMR}$ dengan pembacaan 256-1000 scan, sebagaimana dapat dilihat pada **Gambar 3**, diperoleh adanya 39 sinyal atom karbon yang khas untuk senyawa golongan triterpenoid. Dari 39 sinyal tersebut terdapat tiga sinyal yang muncul di atas 100 ppm yaitu pada δ_c 100,7, 121,2 dan 140,4 ppm yang mengidentifikasi senyawa memiliki satu ikatan rangkap. Pada penelitian ini dilakukan perbandingan data hasil $^{13}\text{C-NMR}$ antara isolat GPD-1 dengan senyawa β -Amyrin Cinnamate didapatkan kesamaan pergeseran sinyal yaitu pada δ_c 18,6;18,2, 23,8;23,6, 23,8;23,7, 25,4;25,8, 27,7;27,2, 28,6;28,1, 28,6;28,8, 31,3;31,7, 31,4;32,4, 31,4;32,9, 33,3;33,3, 36,2;37,1, 36,8;37,9, 38,5;38,5, 41,7;42,0, 41,8;43,0, 45,1;46,6, 55,3;55,2, 121,2;121,6, dan 140,4;144,2 ppm.

Pada data hasil $^1\text{H-NMR}$ dengan pembacaan 256-1000 scan sebagaimana dapat dilihat pada **Gambar 4**, didapatkan jumlah atom hidrogen sebanyak 56 atom hidrogen. Berdasarkan data perbandingan hasil $^1\text{H-NMR}$ antara isolat GPD-1 dengan senyawa β -Amyrin

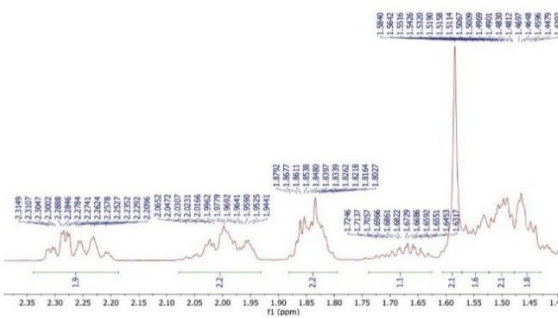
Cinnamate diperoleh kesamaan pergeseran sinyal proton yaitu pada δ H 0,80;0,81, 0,90;0,91, 0,93;0,92, 0,86;0,89, 0,89;0,90, 0,93;0,93, 0,98;0,97, 1,00;0,98, 1,02;1,01, 1,09;1,09, 1,13;1,14, 1,18;1,17, 1,25;1,26, 1,31;1,32, 1,33;1,34, 1,38;1,40, 1,40;1,41, 1,43;1,43, 1,50;1,54, 1,63;1,65, 1,64;1,65, 2,09;2,10, 4,42;4,55, dan 5,33;5,36 ppm.



Gambar 3. Spektrum ¹³C-NMR Isolat GPD-1



(a)



(b)

Gambar 4. Spektrum ¹H-NMR Isolat GPD-1, (a) δ 1,30 – 0,66 ppm, (b) δ 2,35 – 1,80 ppm

Perbandingan data pergeseran kimia pada spektrum ¹³C-NMR antara isolat GPD-1 dengan senyawa Stigmasta-5,22-dien-3 β -O-D-glucopyranoside didapatkan kesamaan pergeseran sinyal yaitu pada δ C seperti tertera pada **Tabel 1**.

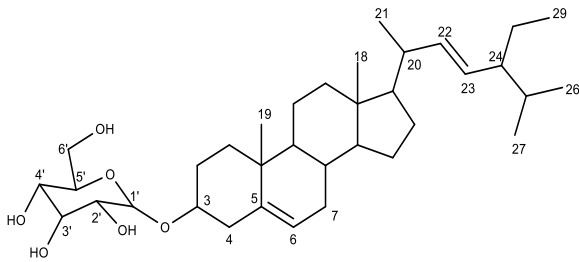
Berdasarkan Tabel 1. Isolat GDP-1 menunjukkan adanya sinyal karbon alkena di C5 (δ 140,47 ppm) dan C6 (δ 121,24 ppm; δ 5,32 ppm), serta di C22 (δ 138,06 ppm; δ 5,15 ppm) dan C23 (δ 130,74 ppm; δ 5,01 ppm), yang

menandakan keberadaan dua ikatan rangkap. Karbon C3 sebagai posisi substitusi glikosida memperlihatkan sinyal δ 76,98 ppm dan δ 3,46 ppm, yang menunjukkan lingkungan oksigenasi akibat ikatan glikosidik. Gugus glukosa ditunjukkan pada enam sinyal karbon dalam rentang δ 61–101 ppm dan sinyal proton antara δ 3,01–4,21 ppm, dengan karbon anomerik (C1') pada δ 100,78 ppm dan δ 4,21 ppm yang mengindikasikan adanya gugus glukosa (glukopiranosida). Sinyal metil dari posisi C18, C19, dan metil terminal lainnya muncul dalam rentang δ 11–24 ppm dan δ 0,83–0,99 ppm. Pola pergeseran kimia ini sesuai dengan data pembanding senyawa Stigmasta-

Tabel 1. Perbandingan Proton dan Karbon NMR dari Senyawa Hasil Isolasi Dengan Literatur

No	Isolat GPD-1		<i>Stigmasta-5,22-dien-3β-O-D-glucopyranoside</i> (García et al., 2018)	
	¹³ C NMR	¹ H NMR	¹³ C NMR	¹ H NMR
1	38.30	2.11	38,30	2,12
2	33.35	1.37	33,33	1,36
3	76.98	3.46	76,89	3,46
4	36.83	1.19	36,82	1,18
5	140.47	-	140,44	-
6	121.24	5.32	121,21	5,32
7	31.38	1.49	31,36	1,49
8	31.38	1.62	31,36	1,62
9	49.61	0.81	49,6	0,82
10	36.23	-	36,21	-
11	22.62	1.22	22,60	1,23
12	39.00	1.14	41,74	1,13
13	41.87	-	41,85	-
14	56.27	-	56,25	-
15	24.88	1.07	25,43	1,06
16	29.26	1.78	29,26	1,78
17	55.43	1.03	55,42	1,02
18	11.80	-	11,78	-
19	18.95	0.95	18,93	0,95
20	35.49	1.4	35,47	1,40
21	18.63	0.99	18,61	0,98
22	138.06	5.15	-	5,15
23	130.74	5.01	-	5,01
24	31.43	0.83	31,41	0,83
25	31.43	1.46	31,41	1,47
26	19.12	0.89	19,10	0,89
27	18.85	0.99	18,84	0,98
28	23.88	-	23,86	-
29	11.69	-	11,67	-
1'	100.78	4.21	100,76	4,21
2'	70.12	2.88	70,10	2,88
3'	76.92	3.11	76,76	3,11
4'	73.48	3.04	73,48	3,03
5'	76.76	3.01	76,76	3,01
6'	61.11	3.48	61,09	3,47

5,22-dien-3 β -O-D-glucopyranoside yang juga memiliki ciri khas karbon olefinik pada daerah 120–140 ppm (García et al, 2018).



Gambar 5. Struktur senyawa *Stigmasta-5,22-dien-3 β -O-D-glucopyranoside*.

Spektrum ¹H-NMR juga menunjukkan sinyal proton metil pada δ H 0,8–2,0 ppm dan satu sinyal olefinik pada δ H 5,3 ppm, menandakan keberadaan kerangka siklopentano perhidrofenantren khas senyawa steroid. Hasil ini diperkuat dengan data HSQC yang

memperlihatkan korelasi antara proton dan karbon dalam struktur, menegaskan bahwa isolat GPD-1 merupakan senyawa golongan steroid glikosida, sesuai dengan hasil identifikasi sebagai *Stigmasta-5,22-dien-3 β -O-D-glucopyranoside*.

Uji Aktivitas Antioksidan

Pada penelitian ini dilakukan pengujian aktivitas antioksidan terhadap ekstrak DCM daun ungu dan juga isolat GPD-1. Metode yang digunakan yaitu peredaman radikal bebas DPPH (1,1-difenil-2-pikrikhidrazil) dengan menggunakan *microplate reader*. Pemilihan metode DPPH adalah karena hasilnya akurat, mudah dilakukan dan biayanya murah. Kontrol positif yang digunakan pada penelitian ini adalah vitamin C.

Setelah mengetahui struktur dari isolat yang telah diperoleh selanjutnya dilakukan pengujian aktivitas antioksidan untuk melihat kemampuan dari isolat dan ekstrak dalam menghambat radikal bebas. Hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak dan isolat ditunjukkan pada **Tabel 2**.

Tabel 2. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Ungu dan Isolat GDP-1

Sampel	Konsentrasi (μ g/mL)	Absorbansi	%inhibisi	IC ₅₀ (μ g/mL)
Ekstrak	1000	0,429	36,247	> 1000
	500	0,517	20,586	
	250	0,572	10,825	
	125	0,592	7,365	
	62,5	0,609	4,259	
	31,25	0,635	0,222	
Isolat GPD-1	1000	0,273	16,952	>1000
	500	0,288	11,722	
	250	0,294	9,558	
	125	0,301	6,763	
	62,5	0,305	5,410	
	31,25	0,308	4,328	
Vitamin C	100	0,082	91,863	10,66
	50	0,180	72,159	
	20	0,203	67,518	
	12,5	0,272	53,598	
	6,25	0,346	38,668	
	3,125	0,391	29,523	

Berdasarkan hasil uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH, ekstrak DCM daun ungu (*Graptophyllum pictum* Griff) menunjukkan nilai IC₅₀ sebesar >1000 μ g/mL, yang menandakan aktivitas antioksidan sangat lemah atau hampir tidak aktif. Hasil ini sejalan dengan nilai IC₅₀ isolat GPD-1 yang juga >1000 μ g/mL, berbeda jauh dengan vitamin C sebagai kontrol positif yang memiliki IC₅₀ sebesar 10,66 μ g/mL.

Nilai IC₅₀ yang tinggi menunjukkan bahwa konsentrasi ekstrak dan isolat yang digunakan belum cukup untuk menetralkan 50% radikal bebas DPPH, sehingga daya tangkap radikalnya rendah. Temuan ini mengindikasikan bahwa senyawa utama hasil isolasi (GPD-1), yang diidentifikasi sebagai *Stigmasta-5,22-dien-3 β -O-D-glucopyranoside*, bukan merupakan komponen yang bertanggung jawab terhadap aktivitas

antioksidan dari daun ungu. Aktivitas antioksidan kuat dari daun ungu kemungkinan besar disumbangkan oleh senyawa fenolik dan flavonoid lain yang lebih polar dan tidak terekstraksi maksimal oleh pelarut DCM. Hal ini didukung oleh penelitian Winata (2011) dan Oktavia & Sutoyo (2021) yang menyebutkan bahwa flavonoid merupakan komponen utama berperan sebagai antioksidan alami pada daun ungu.

Berdasarkan hasil uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH, vitamin C menunjukkan hubungan linier yang kuat antara konsentrasi dan persentase inhibisi dengan persamaan $y = 17,563x + 8,4405$ dan nilai koefisien determinasi (R^2) sebesar 0,9835. Nilai R^2 yang tinggi menandakan konsistensi antara peningkatan konsentrasi dan kemampuan vitamin C dalam menetralkan radikal bebas. Berdasarkan perhitungan, nilai IC_{50} vitamin C sebesar 10,66 $\mu\text{g/mL}$, yang termasuk kategori aktivitas antioksidan sangat kuat ($IC_{50} < 50 \mu\text{g/mL}$). Hasil ini membuktikan bahwa vitamin C berperan efektif sebagai donor elektron yang dapat mereduksi radikal bebas DPPH menjadi senyawa non-radikal stabil. Efektivitas ini disebabkan karena vitamin C memiliki gugus hidroksil (-OH) yang mudah melepaskan atom hidrogen untuk menstabilkan radikal bebas (Winarsi, 2007; Sayuti dan Yenrina, 2015). Nilai IC_{50} yang jauh lebih rendah dibandingkan ekstrak DCM daun ungu maupun isolat GPD-1 (>1000 $\mu\text{g/mL}$) menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan daun ungu tidak disumbangkan oleh senyawa steroid glikosida, melainkan kemungkinan oleh senyawa fenolik atau flavonoid polar yang tidak larut optimal dalam pelarut DCM.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, telah berhasil diisolasi senyawa GPD-1 sebanyak 0,1585 g berupa padatan serbuk berwarna putih, berbau tajam, larut dalam DMSO dan metanol yang ditambahkan etil asetat, dengan titik leleh 210–212°C. Identifikasi menggunakan pereaksi anisaldehyd menunjukkan bahwa isolat termasuk golongan steroid, dan hasil karakterisasi melalui spektrum FT-IR, $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$, serta HSQC mendukung bahwa senyawa tersebut merupakan turunan steroid yang diprediksi sebagai Stigmasta-5,22-dien-3 β -O-D-glucopyranoside. Uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH menunjukkan bahwa isolat GPD-1 memiliki nilai $IC_{50} > 1000 \mu\text{g/mL}$, sehingga dinyatakan tidak memiliki potensi aktivitas antioksidan.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada tim penelitian daun ungu, Wahyuni, Artha, M. Almurdati, serta Hibah penelitian Stifar Riau Tahun akademik 2024/2025.

UCAPAN TERIMAKASIH

Saya dan tim menyatakan bahwa bahwa tidak ada *conflict of interest* pada penulisan artikel ini.

REFERENSI

- Alauhdin, A., Rahmadani, E., & Hartati, S. 2021. Analisis Gugus Fungsi Senyawa Metabolit Sekunder Menggunakan Spektrum FTIR. *Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi*, **26(3)**: 115–122.
- Arista, R.A., et al., 2023. Skrining Fitokimia, Uji Sitotoksitas, dan Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Wungu (*Graptophyllum pictum* L. Griff). *Jurnal Jamu Indonesia*, **8(2)**: 77–83.
- Atun, S. 2010. *Metabolit Sekunder Tanaman Sebagai Sumber Obat*. Yogyakarta: Universitas Negeri Yogyakarta.
- Cahyanda, S.A., et al. 2025. Standarisasi Ekstrak Daun Ungu dari Blitar Jawa Timur sebagai Alternatif dalam Peningkatan Kesehatan Masyarakat. *PREPOTIF: Jurnal Kesehatan Masyarakat*, **9(2)**: 4913-4925.
- Dhywinanda, D.E., et al. 2023. Essential of *Graptophyllum pictum* for the medical and dental purposes, a Review. *Indonesian Journal of Dental Medicine*, **6(2)**: 83-88.
- Fajrianti, D., Chaidir, C., Hanafi, M. 2024. Identification and Antioxidant Activity Test of *Graptophyllum Pictum* L. Griff Var. Viride Leaf Extract. *Jurnal Info Sains: Informatika dan Sains*, **14(4)**: 596-603.
- Fauzi, D. 2016. Aktivitas ekstrak daun Ungu (*Graptophyllum pictum* L.) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 1–80.
- Galindo, V. M., Delgadillo-Puga, C., & del Rayo Camacho-Corona, M. 2019. Nuclear magnetic resonance spectroscopy data of isolated compounds from *Acacia farnesiana* (L) Willd fruits and two esterified derivatives. *Data in Brief*, **22**: 255-268.
- García, E., García, A., Avalos-Alanís, F. G., Rivas-Galindo, V. M., Delgadillo-Puga, C., & del Rayo Camacho-Corona, M. 2019. Nuclear magnetic resonance spectroscopy data of isolated compounds from *Acacia farnesiana* (L) Willd fruits and two esterified derivatives. *Data in Brief*, **22**: 255-268.
- Hernandez, L. M., Perez, E. A., & Duran, D. R. 2019. Isolation and Characterization of Stigmasta-

- 5,22-dien-3 β -O-D-glucopyranoside from Medicinal Plants. *Journal of Natural Products*, **82(5)**: 1234–1240.
- Makkiyah, F. 2023. Optimization of *Graptophyllum pictum* leaves extraction using a simplex centroid design focused on extracting flavonoids with antioxidant activity. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, **13(5)**: 214–221
- Metiefeng, C., Zhang, X., & Li, H. 2023. Chemical Constituents from *Graptophyllum pictum* and Their Biological Activities. *Phytochemistry*, **211**: 113–128.
- Molyneux, P. 2004. The Use of the Stable Free Radical Diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. *Songklanakarın Journal of Science and Technology*. **26(2)**: 211–219.
- Oktavia, S., & Sutoyo, S. 2021. Identifikasi Senyawa Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Etanol Daun Ungu (*Graptophyllum pictum* Griff). *Jurnal Farmasi dan Ilmu Kefarmasian Indonesia*, **8(2)**: 155–162.
- Oktavia, F.D. & Sutoyo, S. 2021. Skrining Fitokimia, Kandungan Flavonoid Total, dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Tumbuhan *Selaginella doederleinii*. *Jurnal Kimia Riset*, **6(2)**: 141-153.
- Riwanto, I., et al. 2020. Antioxidant and Anti-inflammatory effect of *Graptophyllum pictum* (L.) Griff extract, Study on SOD and COX-2 serum of experimental hemorrhoids. *Medica Hospital*, **7(2)**: 422–426.
- South, J. 2022. Fourier Transform Infrared Spectroscopy in Natural Product Research. *Analytical Chemistry Letters*, **12(3)**: 210–220.
- Widowati, W., Wahyuni, D., & Arumsari, D. 2013. Aktivitas Farmakologi dan Kandungan Kimia Tanaman Daun Ungu (*Graptophyllum pictum* Griff). *Jurnal Farmasi Indonesia*, **8(1)**: 45–52.
- Yasinta, A.B., & Makkiyah, F.A. 2024. Aktivitas Antioksidan dan Antiinflamasi pada Daun Ungu (*Graptophyllum pictum*), *IKRAITH-HUMANIORA*, **8(1)**: 177-187