

ANALISIS SENYAWA METABOLIT SEKUNDER DARI EKSTRAK METANOL DAUN SURIAN YANG BERPOTENSI SEBAGAI ANTIOKSIDAN

Yuhernita^{*)} dan Juniarti

Departemen Biokimia, Fakultas Kedokteran, Universitas YARSI, Jakarta 10510, Indonesia

^{*)}E-mail: ynita.syam@gmail.com

Abstrak

Studi tentang uji kandungan metabolit sekunder dari ekstrak metanol daun surian (*Toona sureni* (Bl.) Merr) telah dilakukan dengan metode kromatografi lapis tipis (KLT). Hasilnya memperlihatkan bahwa ekstrak metanol daun surian mengandung alkaloid, flavonoid, polifenol dan terpenoid. Semua metabolit tersebut memiliki kemampuan untuk meredam 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH). Untuk melihat kemampuan peredaman DPPH diukur secara spektrofotometri dan memperlihatkan nilai IC₅₀ (4,80 ppm) yang relatif lebih kecil dibandingkan standar asam askorbat (IC₅₀ = 9,23 ppm).

Abstract

Secondary Metabolites Analysis of Methanol Extract of Surian (*Toona sureni* (Bl.) Merr) Leaf as Antioxidant Potential. The study of performed secondary metabolites from the methanol extract of Surian (*Toona sureni* (Bl.) Merr) leaves have been done by thin-layer chromatography (TLC) method. The result showed that methanol extract of Surian leaves consist of alkaloid, flavonoid, polyphenol and terpenoid. All of them positively have the ability to scavenge 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH). It has IC₅₀ (4.80) are smaller than the ascorbat acid standard (IC₅₀ = 9.23).

Keywords: antioxidant, diphenyl picrylhydrazyl, Toona sureni

1. Pendahuluan

Indonesia adalah negara dengan hutan tropis paling besar ketiga di dunia (setelah Brazil dan Zaire). Keanekaragaman hayati merupakan basis berbagai pengobatan dan penemuan industri farmasi dimasa mendatang. Jumlah tumbuhan berkhasiat obat di Indonesia diperkirakan sekitar 1.260 jenis tumbuhan. Tumbuhan menghasilkan metabolit sekunder yang berpotensi sebagai antioksidan, zat perwarna, penambah aroma makanan, parfum, insektisida dan obat. Ada 150.000 metabolit sekunder yang sudah diidentifikasi dan ada 4000 metabolit sekunder "baru"/tahun [1].

Baru-baru ini, antioksidan menjadi topik menarik. Ini merupakan minat yang besar bagi khalayak ramai, ahli obat, nutrisi, penelitian ilmu kesehatan dan makanan untuk mengetahui kapasitas dan unsur antioksidan pada makanan yang kita konsumsi [2] begitu pula pada tumbuhan. Antioksidan dapat membantu melindungi tubuh manusia melawan kerusakan yang disebabkan oleh senyawa oksigen reaktif (ROS; *reactive oxygen species*) dan radikal bebas lainnya [3-4]. Akibat reaktivitas

yang tinggi, radikal bebas dapat merusak berbagai sel makromolekul, termasuk protein, karbohidrat, lemak dan asam nukleat. Radikal bebas mampu merusak molekul dan menjadi penyebab dari beberapa penyakit degeneratif dan penyakit kronis [4-6].

Banyak penelitian telah membuktikan manfaat mengkonsumsi tanaman yang berkhasiat antioksidan, seperti dapat menurunkan resiko penyakit jantung, kanker, katarak dan penyakit degeneratif lain karena proses. Hal ini menjadikan antioksidan, terutama dari alam, banyak diminati di dunia saat ini.

Surian (*Toona sureni* (Bl.) Merr.) merupakan salah satu tumbuhan tingkat tinggi yang terdapat di Indonesia. Tumbuhan ini telah banyak dimanfaatkan oleh masyarakat untuk berbagai keperluan. Kayu surian berkualitas tinggi karena sangat kuat dan tahan terhadap serangga sehingga sering digunakan untuk bahan bangunan dan pembuatan meubel [7].

Seiring dengan pemanfaatan batangnya, bagian-bagian lain dari tumbuhan ini pun dapat digunakan secara

tradisional karena mempunyai keistimewaan tersendiri. Dalam bidang kesehatan, daun surian yang berwarna merah digunakan sebagai astringen, tonikum, obat diare kronis, disentri dan penyakit usus lainnya. Ekstrak daun surian ini diketahui mempunyai efek antibiotik serta mempunyai bioaktivitas sebagai antimikroba terhadap *Staphylococcus*. Pucuk daun surian juga dapat digunakan untuk mengatasi pembengkakan ginjal. Kulit kayu, daun dan buahnya kaya akan kandungan minyak atsiri [7].

Dari penelusuran literatur, sedikit sekali diperoleh informasi ilmiah tentang bioaktivitas daun surian, padahal secara tradisional daun surian telah dimanfaatkan sebagai bahan obat. Pada penelitian sebelumnya telah dilakukan penapisan pada berbagai ekstraksi dengan menggunakan metode *brine shrimp lethality test* (BSLT) dan dengan peredaman radikal 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) [8]. Pada uji awal reaksi peredaman DPPH, diketahui bahwa ekstrak n-heksan, etil asetat dan metanol dari daun surian punya aktivitas antioksidatif yang cukup baik bila dibandingkan asam askorbat (vitamin C). Metabolit sekunder yang bersifat antioksidatif diantaranya adalah alkaloid, flavonoid, senyawa fenol, steroid dan terpenoid. Berdasarkan hal tersebut peneliti melanjutkan penelitian ini untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder apa saja yang bersifat antioksidatif dalam ekstrak metanol daun surian (*T. sureni* (Bl.) Merr).

Dalam penelitian ini plat KLT digunakan untuk menapis peredaman 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) dengan menggunakan berbagai eluen yang sesuai dengan kandungan metabolitenya. Selain itu peneliti juga tertarik untuk mengetahui besarnya aktivitas antioksidan (%) ekstrak daun surian tersebut dengan cara reaksi peredaman radikal (DPPH) secara spektrofotometri. Penelitian ini dibatasi pada analisis metabolit sekunder yang terdapat dalam ekstrak metanol, karena dari penelitian sebelumnya diketahui bahwa ekstrak metanol relatif lebih banyak dibanding ekstrak lainnya. Informasi yang diperoleh dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi pada peningkatan pemanfaatan sumber daya alam, khususnya dalam bidang pengobatan.

2. Metode Penelitian

Pada penelitian ini dilakukan ekstraksi daun surian menggunakan tiga pelarut organik dengan kepolaran yang berbeda, yaitu n-heksan (non-polar), etil asetat (semi polar) dan metanol (polar). Sampel yang digunakan adalah daun surian (*T. sureni* (Bl.) Merr.) yang diambil dari Kecamatan Wanaraja Garut. Penapisan fitokimia dengan menggunakan metode kromatografi lapis tipis (KLT) dilakukan untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder yang terdapat dalam ekstrak metanol. Fase gerak yang digunakan untuk mengelusi sampel divariasikan berdasarkan gradien kepolaran. Pereaksi

penampak noda disesuaikan dengan metabolit sekunder yang akan diamati [9]. Dengan metode KLT ini juga dilakukan penapisan aktivitas antioksidan dari masing-masing metabolite sekunder dengan menggunakan pereaksi 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH). Penapisan aktivitas antioksidan ini dilakukan dengan menggunakan asam askorbat sebagai larutan standar.

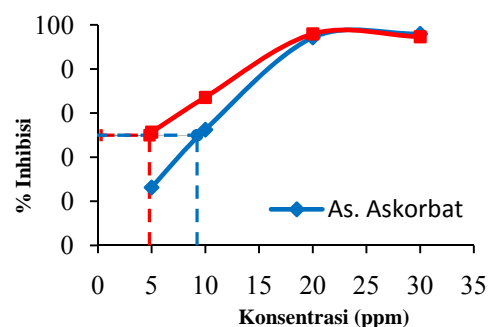
Uji antioksidan dengan metode peredaman DPPH dilakukan lebih lanjut dengan mengukur sejauh mana reaksi peredaman terhadap radikal bebas DPPH dapat berlangsung. Pengukuran dilakukan secara spektrofotometri dengan mengukur serapan dari masing-masing sampel yang sudah direaksikan dengan larutan standar DPPH 1 mM pada λ 515. Sebagai standar digunakan larutan asam askorbat.

Parameter yang biasa digunakan untuk menginterpretasikan hasil dari uji aktivitas antioksidan dengan peredaman radikal DPPH adalah nilai *efficient concentration* (EC_{50}) atau disebut nilai IC_{50} , yakni konsentrasi yang menyebabkan hilangnya 50% aktivitas DPPH [10]. Peredaman radikal DPPH adalah peredaman radikal yang mudah dan akurat dengan kehandalan untuk mengukur kapasitas antioksidan suatu sampel. Peredaman radikal DPPH ini memiliki teknik sederhana, tetapi memiliki kelemahan dalam waktu pengaplikasiannya [2].

3. Hasil dan Pembahasan

Hasil. Sampel diambil dari Kecamatan Wanaraja Kabupaten Garut Jawa Barat. Pada penelitian ini, 718,9 gram daun surian yang sudah dikeringanginkan dimaserasi dengan pelarut metanol. Ekstrak metanol yang diperoleh dari 3 kali maserasi adalah 186,5 gram dengan rendemen 25,96%. Ekstrak berbentuk cairan kental dan berwarna coklat tua kehijauan. Terhadap ekstrak ini dilakukan penapisan fitokimia dan antioksidan untuk senyawa alkaloid, flavonoid, polifenol dan terpenoid/steroid dengan metode KLT (Tabel 1).

Setelah itu dilakukan uji aktivitas antioksidan dengan peredaman radikal DPPH, sebagai kontrol positif diuji pula asam askorbat (Gambar 2). Analisis aktivitas



Gambar 2. Inhibisi Ekstrak Daun Surian dengan Metode Peredaman DPPH

Tabel 1. Hasil Penapisan Fitokimia dan Antioksidan Ekstrak Metanol Batang *Toona sureni* (Bl.) Merr.

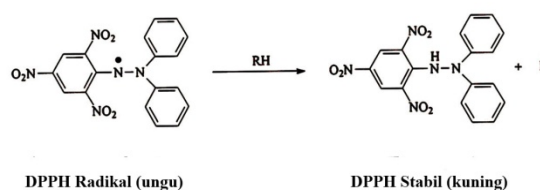
Jenis Identifikasi	Harga Rf	Warna Noda pada Kromatogram			
		+ Pereaksi	UV 365 nm		+ DPPH
			Sebelum	+ Pereaksi	
Alkaloid	0,937	Hijau kehitaman	Ungu floresensi	Abu-abu tua	Kuning
Flavonoid	0,707	Coklat	Biru floresens	Coklat hijau	-
	0,200	Coklat	Biru floresens	Coklat-hijau	Kuning
Polifenol	0,833	Biru keunguan	Kuning keunguan	Biru floresen	Kuning
	0,449	Biru keunguan	Kuning keunguan	Biru floresen	Kuning
	0,064	Biru keunguan	Kuning keunguan	Biru floresen	Kuning
Terpenoid	0.019	Hijau kehitaman	Ungu floresen	Hijau floresen	Kuning

antioksidan memberikan nilai $IC_{50} = 4,80$ ppm yang relatif lebih kecil dari standar asam askorbat ($IC_{50} = 9,23$ ppm).

Pembahasan. Proses ekstraksi dengan tiga pelarut memberikan rendemen yang bervariasi untuk setiap pelarut yang digunakan. Dari ketiga ekstrak yang diperoleh dapat dilihat bahwa, ekstrak metanol, merupakan ekstrak yang paling banyak jumlahnya. Hal ini jelas menunjukkan bahwa kandungan senyawa organik polarnya relatif besar, diikuti berturut-turut oleh ekstrak etil asetat (semi polar) dan n-heksan (non-polar). Hasil penapisan fitokimia yang dilakukan dengan metode KLT, diperoleh bahwa ekstrak metanol daun surian (*T. sureni*, (Bl.) Merr) positif mengandung alkaloid, flavonoid, dan juga polifenol (Tabel 1).

Uji aktivitas antioksidan dari ekstrak daun surian (*T. sureni*, Bl. (Merr)) dilakukan melalui reaksi peredaman radikal 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH). Radikal bebas dikenal sebagai faktor utama dalam kerusakan biologi, dan DPPH digunakan untuk mengevaluasi aktivitas peredaman radikal bebas dari suatu antioksidan alami. DPPH yang merupakan suatu molekul radikal bebas dengan warna ungu dapat berubah menjadi senyawa yang stabil dengan warna kuning oleh reaksi dengan antioksidan, dimana antioksidan memberikan satu elektronnya pada DPPH sehingga terjadi peredaman pada radikal bebas DPPH. Uji DPPH merupakan metode yang mudah untuk menapis sejumlah kecil molekul antioksidan karena reaksi dapat diamati secara visual menggunakan KLT, atau juga intensitasnya dapat dianalisis melalui spektrofotometri sederhana. Struktur DPPH dan reaksinya dengan antioksidan ditunjukkan pada Gambar 3.

Elektron tak berpasangan pada DPPH memberikan suatu absorpsi yang kuat, maksimum pada $\lambda = 517$ nm dan berwarna ungu. Peredaman radikal bebas oleh antioksidan terjadi ketika elektron tak berpasangan menjadi berpasangan dengan adanya sebuah donor hidrogen, sehingga membentuk DPPH yang lebih stabil [11].

**Gambar 3. Mekanisme DPPH Akseptor**

Aktivitas peredaman radikal bebas biasanya dinyatakan sebagai persen inhibisi dari DPPH, tetapi dapat juga dinyatakan sebagai konsentrasi yang menyebabkan hilangnya 50% aktivitas DPPH (IC_{50}). Nilai IC_{50} dianggap sebagai ukuran yang baik dari efisiensi antioksidan senyawa-senyawa murni ataupun ekstrak [12].

Persentase inhibisi tertinggi dari ekstrak asam askorbat dan ekstrak metanol adalah 96% dan 94%. Persentase ini menunjukkan bahwa aktivitas DPPH sudah hilang sebesar 96% pada asam askorbat 20 ppm dan 94% pada ekstrak metanol 20 ppm. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak metanol mampu meredam radikal DPPH, dan kekuatan peredamannya relatif lebih baik dibandingkan standar asam askorbat. Kemampuan peredaman radikal DPPH pada ekstrak metanol terutama terjadi pada metabolit sekunder alkaloid ($R_f = 0,937$) dan polifenol ($R_f = 0,833$ dan $0,449$). Hal ini terkait erat dari bentuk struktur kedua metabolit tersebut.

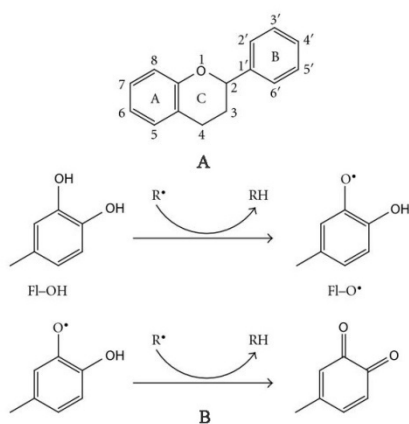
Pada senyawa polifenol, aktivitas antioksidan berkaitan erat dengan struktur rantai samping dan juga substitusi pada cincin aromatiknya. Kemampuannya untuk bereaksi dengan radikal bebas DPPH dapat mempengaruhi urutan kekuatannya antioksidannya. Aktivitas peredaman radikal bebas senyawa polifenol diyakini dipengaruhi oleh jumlah dan posisi hidrogen fenolik dalam molekulnya. Dengan demikian aktivitas antioksidan yang lebih tinggi akan dihasilkan pada senyawa fenolik yang mempunyai jumlah gugus hidroksil yang lebih banyak pada inti flavonoidnya [12]. Senyawa fenolik ini mempunyai kemampuan untuk

menyumbangkan hidrogen, maka aktivitas antioksidan senyawa fenolik dapat dihasilkan pada reaksi netralisasi radikal bebas yang mengawali proses oksidasi atau pada penghentian reaksi radikal berantai yang terjadi [12].

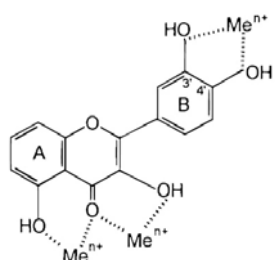
Sifat antioksidan dari flavonoid berasal dari kemampuan untuk mentransfer sebuah elektron ke senyawa radikal bebas (Gambar 4) [13-16] dan juga membentuk kompleks dengan logam (Gambar 5) [14]. Kedua mekanisme itu membuat flavonoid memiliki beberapa efek, diantaranya menghambat peroksidasi lipid, menekan kerusakan jaringan oleh radikal bebas dan menghambat aktivitas beberapa enzim [17].

Senyawa alkaloid, terutama indol, memiliki kemampuan untuk menghentikan reaksi rantai radikal bebas secara efisien. Senyawa radikal turunan dari senyawa amina ini memiliki tahap terminasi yang sangat lama (Gambar 6).

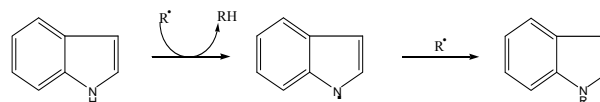
Beberapa senyawa alkaloid lain yang bersifat antioksidan adalah quinolon [18], kafein yang dapat bertindak sebagai peredam radikal hidroksil [17] dan melatonin yang berperan penting menjaga sel dari pengaruh radiasi dan toksisitas obat-obatan [19-20]. Namun dalam penelitian ini belum dapat diketahui jenis alkaloid apa yang berperan dalam bioaktivitas antioksidan.



Gambar 4. Peredaman Radikal Bebas oleh Flavonoid. (A) Struktur Dasar Flavonoid [14]. (B) Proses Peredaman Radikal Bebas oleh Flavonoid [15].



Gambar 5. Pembentukan Kompleks Logam pada Flavonoid



Gambar 6. Peredaman Radikal Bebas oleh Alkaloid

Sementara itu dari data persen inhibisi yang diperoleh (Gambar 2) didapatkan nilai IC_{50} untuk ekstrak metanol daun surian (*T. sureni* (Bl.) Merr) adalah 4,80 ppm sedangkan asam askorbat adalah 9,23 ppm. Nilai IC_{50} dari ekstrak metanol daun surian yang relatif lebih kecil ini menunjukkan bahwa aktivitas antioksidannya relatif lebih besar dibandingkan larutan standar asam askorbat.

4. Simpulan

Ekstrak metanol daun surian yang diperoleh mempunyai rendemen 25,96%. Ekstrak metanol yang relatif lebih banyak dibandingkan ekstrak etil asetat maupun n-heksan. Hal ini menunjukkan bahwa kandungan senyawa polar pada daun surian (*T. sureni* (Bl.) Merr) relatif lebih banyak dibandingkan senyawa non polar.

Dari hasil uji peredaman 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) diketahui bahwa ekstrak metanol memberikan nilai positif terhadap uji DPPH, dengan nilai IC_{50} 4,8 ppm, yang relatif lebih baik dari asam askorbat (IC_{50} = 9,23 ppm). Aktivitas antioksidan ini disebabkan adanya kandungan alkaloid dan polifenol yang dapat meredam radikal DPPH dengan cara mentransfer elektron ke senyawa radikal bebas DPPH.

Untuk mengetahui lebih jauh aktivitas antioksidan dari ekstrak metanol daun surian (*T. sureni* (Bl.) Merr) ini disarankan untuk melakukan fraksinasi dan isolasi sehingga dapat diketahui zat-zat yang aktif sebagai antioksidan.

Ucapan Terima Kasih

Terima kasih kami sampaikan kepada Dirjen DIKTI yang telah mendanai penelitian ini melalui program Penelitian Dosen Muda. Ucapan terima kasih kami sampaikan juga kepada Laboratorium Terpadu Universitas YARSI yang telah memfasilitasi laboratorium untuk penelitian ini.

Daftar Acuan

- [1] G. Indrayanto, Prospek (Kimia) Bahan Alam untuk Penemuan Obat Baru, Seminar Umum Pendidikan Program Studi, Universitas Mulawarman, 2006.
- [2] D. Huang, B. Ou, R.L. Prior, J. Agric. Food Chem. 53 (2005) 1841.
- [3] L. Wang, J.H. Yen, H.L. Liang, M.J. Wu, J. Food Drug Anal. 11/1 (2003) 60.

- [4] J.M. Oke, M.O. Hamburger, African Journal of Biomedical Research 5 (2002) 77.
- [5] Q.Y. Zhu, R.M. Hackman, J.L. Ensunsa, R.R. Holt, C.L. Keen, Journal of Agricultural and Food Chemistry 50 (2002) 6929.
- [6] R. Nia, D.H. Paper, E.E. Essien, K.C. Iyadi, A.I.L. Basse, A.B. Antai, G. Franz, African Journal of Biomedic Research 7 (2004) 129.
- [7] D.F. Djam'an, Seed Leaflet, Danida Forest Seed Centre, Denmark, 2003. http://en.sl.life.ku.dk/dfsc/pdf/Seedleaflets/toona_su_reni_82.pdf.
- [8] Yuhernita, Juniarti, Jurnal Kimia Mulawarman, 6/2 (2009) 33.
- [9] B. Sutrisno, K.L.T. Peraksi, Fakultas Farmasi, Universitas Pancasila, Jakarta, 1993.
- [10] P. Molyneux, Songklanakar Journal Science Technology 26/2 (2004) 211.
- [11] G.C. Jagetia, V.A. Venkatesha, T.K. Reddy, Mutagenesis 18/4 (2003) 337.
- [12] N.E. Es-Safi, S. Ghidouche, P.H. Ducrot, Molecule 12 (2007) 2228.
- [13] V.K. Gupta, R. Kumria, M. Garg, M. Gupta, Asian Journal of Sciences 9/3 (2010) 108.
- [14] P.G. Pietta, Journal Natural Product 63 (2000) 1035. <http://nfscfaculty.tamu.edu/talcott/Food Chem 605/Class Presentation Papers/Review-Flavonoids as AOX.pdf>.
- [15] Y. Porat, A. Abramowitz, E. Gazit, Chem. Biol. Drug 67 (2006) 27.
- [16] X. Meng, L.A. Munishkina, A.L. Fink, V.N. Uversky, SAGE-Hindawi Access to Research Parkinson's Disease, 2010, <http://www.sage-hindawi.com/journals/pd/2010/650794/ref/>.
- [17] F. Shahidi (Ed.), C. Kadaswami, E. Middleton, V.K.S. Shukla, Natural Antioxidants: Chemistry, Health Effects, and Applications, AOCS Press, Illionis, 1997.
- [18] H.S. Chung, W.S. Woo, Journal Natural Product 64/12 (2001) 1579.
- [19] Vijayalaxmi, C.R. Thomas, R.J. Reiter, T.S. Herman, Journal of Clinical Oncology 20/10 (2002) 2575.
- [20] M. Mor, C. Silva, F. Vacondio, P.V. Plazzi, S. Bertoni, G. Spadoni, G. Diamantini, A. Bedini, G. Tarzia, M. Zusso, D. Franceschini, P. Giusti, J. Pineal. Res. 36/2 (2004) 95.