

FITOKIMIA DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK KULIT BATANG *Chisocheton sp. (C.DC)* Harms (Meliaceae)

Dewa Gede Katja

¹Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Sam Ratulangi Manado

ABSTRAK

Tujuan penelitian ini untuk mengetahui golongan senyawa metabolit sekunder dan aktivitas antioksidan dari setiap ekstrak kulit batang *Chisocheton sp. C.DC* Harms (Meliaceae). Hasil ekstraksi 200 g serbuk kulit batang *Chisocheton sp. C.DC* Harms (Meliaceae) dengan n-heksana, etil asetat dan metanol masing-masing dengan 2000 mL berturut-turut menghasilkan 7,193 g ekstrak pekat n-heksana, 8,798 g ekstrak pekat etil asetat dan 18,683 g ekstrak pekat metanol. Hasil uji fitokimia menunjukkan adanya golongan senyawa flavonoid, triterpenoid dan tanin. Hasil uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH menunjukkan bahwa ekstrak n-heksana memberikan nilai IC₅₀ sebesar 337,28 µg/mL, ekstrak metanol sebesar 216,73 µg/mL, dan ekstrak etil asetat sebesar 199,89 µg/mL yang berarti etil asetat memiliki kemampuan yang paling besar dalam menangkap radikal bebas.

Kata kunci: *Chisocheton sp. C.DC* Harms, flavonoid, triterpenoid, tanin, DPPH, fitokimia

ABSTRACT

The objective of this study was determine the class of secondary metabolite compounds and antioxidant activity of each stem bark extract of *Chisocheton sp. C.DC* Harms (Meliaceae). The results of the extraction of 200 g *Chisocheton sp. C.DC* Harms (Meliaceae) with n-hexane, ethyl acetate and methanol with 2000 mL each yielded 7,193 g of concentrated extract n-hexane, 8,798 g of concentrated extract of ethyl acetate and 18,683 g of concentrated methanol extract. Phytochemical test results showed the presence of flavonoid, triterpenoid and tannin compounds. The results of the antioxidant activity test using the DPPH method showed that the n-hexane extract gave an IC₅₀ value of 337,28 µg/mL, methanol extract was 216,73 µg/mL, and ethyl acetate extract was 199,89 µg/mL which means that ethyl acetate has the ability to greatest in capturing free radicals.

Keywords: *Chisocheton sp. C. DC* Harms, flavonoid, triterpenoid, tannin, DPPH, phytochemicals

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara khatulistiwa yang memiliki iklim tropis dan subtropis, sehingga tumbuh berbagai spesies tumbuhan. Beberapa spesies tumbuhan telah di dimanfaatkan untuk mengobati berbagai jenis penyakit maupun sebagai sumber berbagai obat baru (Karuppusamy dkk., 2009) salah satunya adalah famili *Meliaceae*. Tumbuhan ini telah dikenal sebagai tumbuhan penghasil senyawa-senyawa sebagai tumbuhan penghasil senyawa-senyawa yang aktif yang berpotensi sebagai antimalarial, insektisida, antiviral, antioksidan, antikanker, antibakteri, antimikroba, dan antiinflamasi (Heyne, 1987). *Chisocheton* adalah salah satu genus dari famili *Meliaceae*, memiliki 50 spesies yang tersebar luas

di daerah tropis dan subtropis seperti di Indo-China, Papua Nugini, Cina selatan, Thailand, Malaysia, Nepal, India, Bhutan dan Myanmar (Vossen & Umali, 2002).

Salah satu penyebab adanya penyakit dalam tubuh manusia adalah radikal bebas (Droge, 2002). Radikal bebas yang terbentuk dalam tubuh akan menghasilkan radikal bebas baru melalui reaksi berantai yang jumlahnya terus bertambah dan menyerang sel-sel tubuh (Khlifi dkk., 2005). Untuk melindungi tubuh dari serangan radikal bebas, diperlukan suatu bahan antioksidan yang bersumber dari bahan alam, sehingga dapat menghambat terjadinya reaksi berantai (Windono dkk., 2001). Antioksidan bertindak sebagai penyumbang radikal bebas (Jadhav dkk., 1996). Sumber-sumber antioksidan dapat berupa antioksidan alami maupun

* Korespondensi:

Telepon: +62 813-1492-3544

Email: -

DOI: <https://doi.org/10.35799/cp.13.2.2020.31672>

antioksidan sintetik. Contoh antioksidan alami yaitu fenolik, flavonoid, tanin dan vitamin E sedangkan contoh antioksidan sintetik yaitu BHA (*butylated hydroxyanisole*) dan BHT (*butylated hydroxytoluena*) (Takashi & Takayuki, 1997).

Di Pulau Sulawesi, tepatnya Sulawesi Utara Kota Tomohon terdapat salah satu genus *Chisocheton* dengan spesies *Chisocheton sp. (C.DC) Harms*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder meliputi uji warna sebagai uji fitokimia (Harborne, 1987) dan aktivitas antioksidan dari ekstrak kulit batang *Chisocheton sp. (C.DC) Harms*.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan alat

Bahan yang digunakan yaitu serbuk dari kulit batang tumbuhan *Chisocheton sp. (C.DC) Harms*, metanol, heksana, etil asetat, klorofom, asam sulfat, FeCl₃ 1%, asam asetat anhidrat, NaCl, amonia, aquades, etanol, asam klorida, serbuk magnesium, pereaksi Mayer, pereaksi Dragendorff, pereaksi Wagner, reagen Folin-Ciocalteu 50%, natrium karbonat dan 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH). Alat yang digunakan yaitu gelas kimia, gelas ukur, botol vial besar, labu ukur, spatula, corong kaca, rotary evaporator, oven, timbangan digital, rak tabung reaksi, pipet tetes, mikropipet, kertas saring, cawan petri, pisau, blender, vortex, ayakan 65 mesh, spektrofotometer UV-Vis.

Preparasi sampel

Sampel kulit batang *Chisocheton sp. (C.DC) Harms* di ambil di gunung Soputan Tomohon. Sampel kulit batang yang diperoleh terlebih dahulu dibersihkan selanjutnya dikering-anginkan selama 7 hari, kemudian dipotong kecil-kecil lalu ditumbuk kemudian diblender dan diayak dengan ayakan 65 mesh hingga diperoleh serbuk.

Ekstraksi maserasi

Sebanyak 200 g serbuk kulit batang *Chisocheton sp. (C.DC) Harms* diekstraksi dengan cara maserasi selama 5x24 jam menggunakan pelarut *n*-heksana sebanyak 2000 mL, selanjutnya disaring hingga diperoleh filtrat. Filtrat yang diperoleh kemudian dievaporasi menggunakan rotary evaporator. Kemudian dikeringkan dalam oven pada suhu 40°C hingga diperoleh ekstrak

pekat. Diulangi kembali perlakuan yang sama untuk pelarut etil asetat dan metanol.

Skrinning fitokimia

Ekstrak kental kulit batang dari beberapa pelarut di analisis dengan dilakukan uji kandungan alkaloid, saponin, flavonoid, steroid, triterpenoid, fenolik dengan langkah sebagai berikut:

Pembuatan larutan uji fitokimia

Pembuatan larutan uji untuk skrinning fitokimia dilakukan dengan melarutkan 0,05 g ekstrak kental *n*-heksana dalam 50 mL metanol kemudian di vortex sampai larutan tercampur. Diulangi perlakuan yang sama untuk ekstrak kental etil asetat dan metanol.

Identifikasi kandungan alkaloid

Sebanyak 2 ml larutan uji dari pelarut heksan, dimasukkan dalam tabung reaksi dan ditambahkan 5 tetes amonia pekat. Setelah itu, disaring kemudian ditambah 2 ml asam sulfat 2 N dan dikocok hingga memberi lapisan atas dan bawah. Lapisan atas dibagi menjadi 3 bagian, pada tabung pertama ditambahkan 1 tetes mayer, adanya alkaloid ditandai dengan terbentuknya endapan. Pada tabung kedua ditambah 1 tetes pereaksi Dragendorf dan terbentuknya endapan menandakan adanya alkaloid. Tabung ketiga ditambah 1 tetes pereaksi Wagner dan terbentuknya endapan coklat menandakan adanya alkaloid. Diulangi perlakuan yang sama untuk larutan uji etil asetat dan metanol.

Uji kandungan steroid dan triterpenoid

Sebanyak 2 mL larutan uji dari masing-masing ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Kemudian masing-masing ditambah dengan asam asetat anhidrat 1 tetes dan asam sulfat pekat 2 tetes. Jika terbentuk warna biru atau hijau menandakan adanya steroid. Jika terbentuk warna ungu atau jingga menandakan adanya triterpenoid.

Uji kandungan flavonoid

Sebanyak 2 ml larutan uji dari masing-masing ekstrak dimasukkan dalam tabung reaksi. Kemudian ditambah dengan 5 tetes etanol, lalu dikocok sampai homogen. Setelah itu ditambah dengan serbuk Mg 0,2 gr dan 5 tetes HCl pekat. Jika menghasilkan warna kuning, orange, dan merah menandakan adanya flavonoid.

Uji kandungan saponin

Sebanyak 2 ml larutan uji dari masing-masing ekstrak dimasukkan dalam tabung reaksi. Kemudian ditambah 2 ml aquades, lalu dikocok sampai homogen. Setelah itu, dipanaskan selama 2-3 menit. Dinginkan, setelah dingin kocok dengan kuat. Adanya busa yang stabil selama 30 detik menunjukkan sampel mengandung saponin.

Uji kandungan tanin

Sebanyak 2 ml larutan uji dari masing-masing ekstrak dimasukkan dalam tabung reaksi. Kemudian masing-masing tabung reaksi ditambahkan dengan FeCl₃ 1% 2-3 tetes. Adanya tanin ditandai dengan terbentuknya warna biru tua atau hitam kehijauan.

Penentuan kandungan total fenolik

Kandungan total fenolik kulit batang *Chisocheton sp. C.DC* Harms ditentukan dengan metode Folin Ciocalteu. Sebanyak 0,1 mL larutan ekstrak ditambahkan 0,1 mL reagen Folin Ciocalteu 50%. Kemudian divortex, lalu ditambahkan 2 mL larutan natrium karbonat (Na₂CO₃) 2%. Selanjutnya, campuran diinkubasi dalam ruang gelap selama 30 menit. Diukur absorbansi pada panjang gelombang 750 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Kandungan total fenolik dinyatakan sebagai mg ekuivalen asam galat / g ekstrak.

Pengujian aktivitas antioksidan

Pengujian aktivitas antioksidan ekstrak kulit batang *Chisocheton sp. C.DC* Harms ditentukan dengan metode Muaja dkk. (2017). Larutan ekstrak dan DPPH dibuat terlebih dahulu. Ekstrak dilarutkan dalam metanol dan larutan DPPH dibuat dengan konsentrasi 0,4 mM. Larutan sampel yang

telah dibuat diencerkan dengan berbagai konsentrasi dengan total volume 1 mL dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi sebagai larutan uji dan dibuat juga untuk blanko. Selanjutnya ke dalam tabung reaksi larutan uji ditambahkan 0,2 mL larutan DPPH dan diinkubasi selama 30 menit dalam kondisi gelap. Selama 30 menit, blanko dan larutan uji diukur absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm, nilai absorbansi dari setiap variasi konsentrasi dicatat dan dihitung % *scavenging* dan nilai IC₅₀ pengujian dilakukan sebanyak dua kali. Perhitungan nilai IC₅₀ dinyatakan dengan persamaan regresi linear dan perhitungan % *scavenging* dinyatakan dengan persamaan sebagai berikut :

$$\% \text{ scavenging} = \left(\frac{A_{\text{kontrol}} - A_{\text{sampel}}}{A_{\text{kontrol}}} \right) \times 100\%$$

Keterangan: A_{kontrol} = Absorbansi DPPH, A_{sampel} = Absorbansi DPPH + sampel

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi

Kulit batang *Chisocheton sp. (C.DC)* Harms dihaluskan sampai berbentuk serbuk dengan menggunakan blender, yang bertujuan untuk memperkecil ukuran sampel. Semakin kecil ukuran sampel, semakin besar luas permukaan sehingga dapat mempengaruhi interaksi sampel dengan pelarut maka proses ekstraksi dengan metode maserasi berlangsung optimal dan menghasilkan ekstrak yang maksimal. Ditimbang 200 gram serbuk kering kulit batang *Chisocheton sp. (C.DC)* Harms di maserasi berturut-turut dengan *n*-hexane, etil asetat dan metanol. Diperoleh ekstrak pekat *n*-heksane 7,193 g, ekstrak etil asetat 8,798 g dan ekstrak metanol 18,683 g.

Identifikasi fitokimia

Hasil identifikasi fitokimia kulit batang *Chisocheton sp. C.DC* Harms dilihat pada tabel 1.

Hasil skrining fitokimia pada Tabel 1, ekstrak metanol dan etil asetat menunjukkan adanya senyawa golongan flavonoid, tanin dan triterpenoid.

Tabel 1. Identifikasi skrining fitokimia

Senyawa	Ekstrak	Perubahan Warna	Keterangan
Alkaloid	Metanol	Orange kecokelatan menjadi orange	-
	Etil asetat	Orange menjadi kuning	-
	<i>n</i> -heksan	Kuning pudar menjadi kuning	-
Flavonoid	Metanol	Orange kecokelatan menjadi orange kemerahan	+
	Etil asetat	Cokelat menjadi orange kemerahan	+
	<i>n</i> -heksana	Kuning pudar menjadi bening	-
Tanin	Metanol	Cokelat menjadi biru tua	+
	Etil asetat	Cokelat menjadi biru tua	+
	<i>n</i> -heksana	Kuning pudar menjadi kuning	-
Steroid dan Triterpenoid	Metanol	Orange kecokelatan menjadi jingga	+
	Etil asetat	Cokelat menjadi jingga	+
	<i>n</i> -heksana	Kuning pudar menjadi bening	-
Saponin	Metanol	Orange kecokelatan menjadi orange	-
	Etil asetat	Cokelat menjadi orange	-
	<i>n</i> -heksana	Kuning pudar menjadi bening	-

Kandungan total fenolik

Uji kandungan total fenolik dengan metode Folin-Ciocalteu bertujuan untuk mengetahui jumlah fenol yang terkandung dalam ekstrak *n*-heksana, etil asetat dan metanol kulit batang *Chisocheton sp. C.DC* Harms. Metode ini didasarkan pada kemampuan ekstrak untuk mereduksi reagen Folin-

Ciocalteu (kuning) yang mengandung senyawa fosfomolibdat dan asam fosfotungstat menghasilkan senyawa kompleks molybdenum-fungstat berwarna biru (Julkunen-Tiito, 1985). Semakin biru intensitas warna larutan menunjukkan kandungan total fenol dalam sampel semakin besar (Larson, 1988). Hasil kandungan total fenolik dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Kandungan total fenolik ekstrak metanol, etil asetat dan *n*-heksana kulit batang *Chisocheton sp. C.DC Harms*

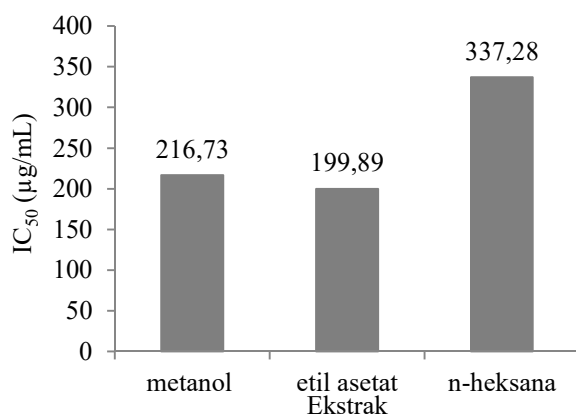
Ekstrak	Kandungan total fenolik ($\mu\text{g/mL}$)
Metanol	91,54 \pm 0,45 ^a
Etil asetat	94,79 \pm 0,36 ^b
<i>n</i> -Heksana	23,68 \pm 0,12 ^c

Keterangan: Huruf yang berbeda di belakang angka menunjukkan perbedaan yang signifikan

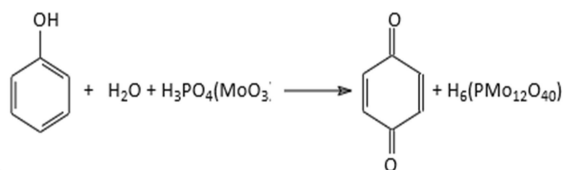
Berdasarkan Tabel 2, menunjukkan bahwa kandungan total fenolik terbesar ada pada ekstrak etil asetat yakni 94,79%, ekstrak metanol 91,54%, dan ekstrak *n*-heksana 23,68%. Hal ini dikarenakan pelarut etil asetat dapat melarutkan senyawa fenolik yang lebih banyak sehingga menunjukkan sebagian besar senyawa fenolik yang terdapat pada kulit batang *Chisocheton sp. C.DC Harms* merupakan senyawa yang bersifat semipolar. Rohman dkk. (2006) melaporkan bahwa pelarut etil asetat sangat cocok untuk mengekstraksi senyawa fenolik.

Aktivitas antioksidan

Pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode Muaja dkk. (2017). Hasil uji aktivitas antioksidan terdapat pada Gambar 2.

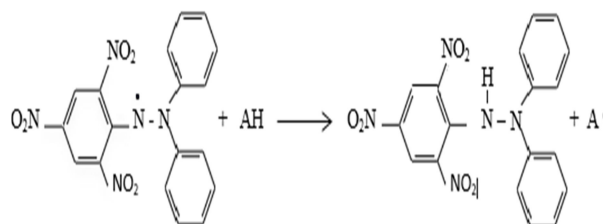


Gambar 2. Aktivitas antioksidan ekstrak metanol, etil asetat dan *n*-heksana dari kulit batang



Gambar 1. Reaksi senyawa fenol dengan reagen Folin-Ciocalteu (Hardiana dkk., 2012)

Berdasarkan Gambar 2 menunjukkan hasil ekstrak etil asetat memiliki nilai IC₅₀ yang paling rendah yaitu 199,89 $\mu\text{g/mL}$, ekstrak metanol 216,73 $\mu\text{g/mL}$, dan ekstrak *n*-heksana 337,28 $\mu\text{g/mL}$. Semakin rendah IC₅₀ maka semakin besar aktivitas antioksidannya. Penentuan nilai aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH. Metode ini merupakan metode yang sederhana, mudah, cepat dan tidak membutuhkan banyak reagen seperti halnya metode lain. Metode ini menggunakan prinsip spektrofotometri. Senyawa DPPH dalam metanol berwarna ungu tua terdeteksi pada panjang gelombang 517 nm. Parameter untuk menginterpretasikan hasil pengujian DPPH adalah dengan nilai IC₅₀ (*Inhibitor Concentration*). IC₅₀ merupakan konsentrasi larutan substrat atau sampel yang mampu mereduksi aktivitas DPPH sebesar 50%. Semakin kecil nilai IC₅₀ berarti semakin tinggi aktivitas antioksidan. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat mempunyai aktivitas antioksidan yang kuat karena mempunyai nilai IC₅₀ kurang dari 200 $\mu\text{g/mL}$ (Blouis, 1958). Hasil reaksi antara penangkap radikal bebas DPPH dengan senyawa antioksidan dapat diketahui melalui perubahan warna dari ungu pekat menjadi kuning akibat terjadi resonansi struktur penangkap radikal bebas DPPH.



Gambar 3. Reaksi antara penangkap radikal (AH) dengan radikal bebas DPPH (Landeng dkk., 2017)

KESIMPULAN

Uji fitokimia ekstrak kulit batang *Chisocheton* sp. (C.DC) Harms, menunjukkan adanya senyawa Flavonoid, triterpenoid dan tanin dan memiliki aktivitas antioksidan. Ekstrak etil asetat memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi dibandingkan dengan ekstrak metanol dan ekstrak *n*-heksana.

DAFTAR PUSTAKA

- Blouis, M.S. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*. 181(4617), 1199-1200.
- Droge, W. 2002. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physical Review*. 82(1), 47-95.
- Hardiana, R. & Rudiyansyah, T.A. 2012. Aktivitas antioksidan senyawa golongan fenol dari beberapa jenis tumbuhan Famili *Malvaceae*. *Jurnal Kimia Khatulistiwa*. 1(1), 8-13.
- Heyne, K. 1987. *Tumbuhan Berguna Indonesia*. Badan Litbang Departemen Kehutanan. Jakarta.
- Inada, A., Sukemawa, M., Murata, H., Nakanishi, T., Tokuda, H., Nishino, H., Iwashima, Darnaedi, D.J. & Murata, J. 1993. Phytochemical studies on maleaceous plant. Part VIII. Structures and inhibitory effects on epstein-barr virus activation of triterpenoida from leaves of *chisocheton macrophyllus* king. *Chem. Pharm. Bull*. 41(3), 617-619.
- Jadhav, S.J., Nimbalkar, S.S., Kulkarni, A.D. & Madhavi, D.L. 1996. Lipid Oxidation in Biological and Food Systems. Dalam D. L. Madhavi, S.S. Deshpandeand D.K Salunkhe (eds). *Food Antioxidants Technological, Toxicological, and Health, Drespctives*. Marcel Dekker, Inc, New York.
- Karuppusamy, S., Kiranmai, C., Aruna, V. & Pullaiah, T. 2009. In vitro conservation of *Ceropegia intermedia*-an endemic plant of south India. *African Journal of Biotechnology*. 8(17), 4052-4057.
- Khlifi, S., Hachimi, Y., Khalil, A., Essafi, N. & Abbouyi, A. 2005. In vitro antioxidant effect of *Globularia alypum* L. hydromethanolic extract. *Indian Journal of Pharmacology*. 37(4), 227-231.
- Landeng, P.J., Suryanto, E. & Momuat, L.I. 2017. Komposisi proksimat dan potensi antioksidan dari biji jagung manado kuning (*Zea mays* L.). *Chemistry Progress*. 10(1), 36-44.
- Larson, R.A. 1988. The antioxidants of hinghest plants. *Phytochemistry*. 27(4), 969-977.
- Molyneux, P. 2004. The use of stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Journal of Materials Science & Technology*. 26(2), 211-219.
- Muaja, M.G.D., Runtuwene, M.R.J. & Kamu, V.S. 2017. Aktivitas antioksidan ekstrak metanol dari daun soyogik (*Saurauia bracteosa* DC). *Jurnal Ilmiah Sains*. 17(1), 68-72.
- Rohman, A., Riyanto, S. & Utari, D. 2006. Aktivitas antioksidan, kandungan fenolik total dan kandungan flavonoid total ekstrak etil asetat buah mengkudu serta fraksi-fraksinya. *Majalah Farmasi Indonesia*. 17(3), 136-142.
- Takashi, M. & Takayuki, S. 1997. Antioxidative activities of natural compounds found in plants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 45(5), 1819-1822.
- Vossen, V.D.H.A.M. & Umali, B.E. 2002. *Plant resources of south-east Asia no. 14 vegetable oils and fats*. Proses Foundation. Bogor, Indonesia.
- Windono, T., Soediman, S., Yudawati, U., Ermawati, E., Srielita & Erowati, T.I. 2001. Uji perendam radikal bebas terhadap 1,1- diphenyl-2 picrylhydrazil (DPPH) dari ekstrak kulit buah dan biji anggur (*Vitis vinitera* L.) Probolinggo Biru dan Bali. *Artocarpus*. 1(1), 34-43.