

Uji Antioksidan Senyawa Terpenoid Dari Fraksi M-17 Ekstrak Metilena Klorida Kulit Batang Tumbuhan Kasturi (*Mangifera casturi*)

Budi Prayitno¹, Kholifatu Rosyidah² dan Maria Dewi Astuti²

¹Program Studi Biologi STKIP PGRI Banjarmasin,

²Program Studi Kimia FMIPA Universitas Lambung Mangkurat

*Email : budi11@mhs.chem.its.ac.id

ABSTRAK

Penelitian tentang isolasi senyawa dari ekstrak metilen klorida telah dilakukan. Hasil analisis diduga senyawa tersebut adalah senyawa (23-E)-27-nor-3 β -hidroksisikloart-23-en-25-on. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antioksidan terhadap radikal DPPH. Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode DPPH (1,1-difenil-2-pikril hidrazil). Vitamin C digunakan sebagai kontrol positif. Senyawa 1 memiliki nilai IC₅₀ sebesar 6.751 ppm dan IC₅₀ vitamin C sebesar 2,98 ppm, sehingga senyawa ini tidak aktif antioksidan.

Kata kunci: *Mangifera casturi*., antioksidan, triterpenoid

ABSTRACT

Research on the isolation of compounds from the fraction of M 17 of methylene chloride extract has been done. The suspected compound is (23-E)-27-nor-3 β -hydroxycycloart-23-ene-25-one. The aims of this study were to determine the antioxidant activity against DPPH radical fraction isolates extracts of plants kasturi to DPPH. The antioxidant activity assay was conducted by DPPH (1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl) method, vitamin C using as a positive control. Compound 1 has an IC₅₀ value of 6.751 ppm while the value of IC₅₀ for vitamin C was 2,98 ppm, so the compound is not an active antioxidant compounds.

Key words: *Mangifera casturi*, Antioxidant, triterpenoid

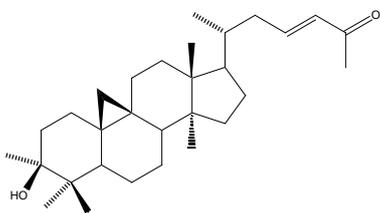
I. PENDAHULUAN

Penelitian tentang senyawa antioksidan eksogen alami terus berkembang. Antioksidan alami dalam makanan yang sudah dikenal, seperti asam

askorbat, β -karoten dan α -tokoferol mampu mencegah perkembangan berbagai penyakit (Reynertson, 2007). Salah satu tumbuhan yang kaya akan senyawa-senyawa yang aktif antioksidan adalah

genus *Mangifera*. Penelitian pada kulit batang *Mangifera indica* menunjukkan kandungan senyawa aktif antioksidan seperti asam askorbat, β -karoten dan senyawa fenolat (Ribeiro, 2007). Selain itu *M. indica* juga mengandung polifenol, triterpen, flavonoida, fitosterol, serta elemen-elemen kecil lainnya, seperti glukosilsanton, yang berfungsi sebagai antiviral, antitumor, antidiabetes dan antioksidan (Rivera *et al.*, 2008).

Kasturi (*M. casturi*) memiliki kekerabatan dengan *M. indica*, sehingga diharapkan kasturi juga mengandung metabolit sekunder yang sama atau hampir sama. Penelitian sebelumnya yang telah diisolasi senyawa terpenoida pada kulit batang tanaman *M. casturi* yang diduga senyawa (23-*E*)-27-*nor*-3 β -hidroksisikloart-23-en-25-on seperti pada *Vatica cinera* (Zhang, *et al.*, 2002) dan *Ficus microcarpa* (Chiang, *et al.*, 2001) dengan struktur senyawa seperti pada Gambar 1.



Gambar 1. (23-*E*)-27-*nor*-3 β -hidroksi sikloart-23-en-25-on

Studi literatur terhadap senyawa (23-*E*)-27-*nor*-3 β -hidroksisikloart 23-en-25-on menunjukkan bahwa senyawa ini

memiliki aktivitas sitotoksik (CC_{50}) yaitu sebesar 5,4 $\mu\text{g/ml}$ (12,7 μM) dan memiliki aktivitas anti-HIV (IC_{50}) sebesar 21% penghambatan pada 2,5 $\mu\text{g/ml}$ (5,9 μM). Keaktifan ini lebih tinggi daripada asam betulinat, asam ursolat dan asam betulonat yang memiliki CC_{50} berturut-turut sebesar 16,4 $\mu\text{g/ml}$ (36,0 μM), 7,2 $\mu\text{g/ml}$ (15,8 μM) dan 47,7 $\mu\text{g/ml}$ (105,1 μM) dan IC_{50} berturut-turut sebesar 14,8 $\mu\text{g/ml}$ (32,5 μM), 6,7 $\mu\text{g/ml}$ (17,7 μM) dan 9,7 $\mu\text{g/ml}$ (21,4 μM) (Zhang, *et al.*, 2002). Penelitian ini akan dilakukan uji antioksidan senyawa tersebut dengan metode DPPH, untuk melihat seberapa besar keaktifannya sebagai penangkal radikal DPPH.

II. BAHAN DAN METODE

A. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Fraksi M 17 dari penelitian sebelumnya, pelarut organik teknis *n*-heksana, metilena klorida (MTC), aseton, metanol (MeOH), dan etil asetat (EtOAc). Pelarut organik pro analitik (pa) yaitu kloroform (CHCl_3) dan metanol. Alumunium foil, kertas saring Whatman 40, plat KLT silika gel Merck 60 GF₂₅₄ 0,25 mm ukuran 20 x 20 cm dengan alumunium sebagai penyangga fasa diam, silika gel Merck 60 GF₂₅₄, silika gel G 60 (60-70 mesh), larutan penampak noda 1,5% serum sulfat, DPPH, dan vitamin C.

B. Uji aktivitas antioksidan dengan DPPH

Senyawa murni ditotolkan di atas plat KLT, kemudian dielusi dengan pelarut yang sesuai dan disemprot dengan larutan DPPH 1 mM dalam metanol. Setelah 20 menit, kromatogram diamati (Hanani, 2005). Senyawa yang aktif sebagai antioksidan menunjukkan noda kuning dengan latar ungu (Siska, 2010).

C. Penentuan Daya Antioksidan

Uji antioksidan senyawa aktif tersebut, dilakukan dengan menggunakan perlakuan yang sama seperti perlakuan awal pada setiap fraksi. Uji aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*) dilakukan pada panjang gelombang maksimum (λ_{maks}). Penentuan panjang gelombang maksimum DPPH dilakukan dengan menambahkan 1 ml DPPH 1 mM pada 10 ml metanol, kemudian diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV. Absorbansi yang paling besar, dilihat panjang gelombangnya dan dijadikan panjang gelombang maksimum (λ_{maks}).

Senyawa aktif murni hasil isolasi dilarutkan dalam metanol dan dibuat dalam berbagai konsentrasi. Sampel sebanyak 10 ml dengan variasi konsentrasi 10, 30, 50, 70 dan 90 ppm, dimasukkan ke

dalam botol sampel. Setiap botol sampel ditambahkan 1 ml larutan DPPH 1 mM dalam metanol, kemudian diinkubasi selama 30 menit pada suhu kamar, selanjutnya serapannya diukur pada panjang gelombang maksimum (Hanani, 2005). Sebagai kontrol positif dan untuk pembandingan digunakan vitamin C sebanyak 10 ml dengan variasi konsentrasi 1, 2, 3, 4, dan 5 ppm (Siska, 2010), yang dilakukan dengan perlakuan yang sama seperti pada senyawa murni aktif hasil isolasi. Pengukuran absorbansi dengan spektrometer UV dilakukan sebanyak 3 kali baik pada senyawa hasil isolasi dan vitamin C.

Pengolahan data:

Guessan *et al.* (2007) melakukan analisis aktivitas antioksidan sampel ditentukan oleh besarnya hambatan serapan radikal DPPH melalui perhitungan persentase penghambatan (inhibisi) serapan DPPH dengan menggunakan rumus :

$$\% \text{ Penghambatan} = \frac{A_{awal} - A_{akhir}}{A_{akhir}} \times 100$$

Keterangan :

- A_{awal} : Absorbansi blangko pada panjang gelombang maksimum
- A_{akhir} : Absorbansi sampel dalam radikal DPPH 1 mM dalam

metanol pada panjang gelombang maksimum

Nilai IC_{50} dihitung masing-masing dengan menggunakan rumus persamaan regresi linear.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Uji Pendahuluan Antioksidan

Uji pendahuluan dilakukan dengan meneteskan larutan DPPH 1mM pada plat KLT yang terdapat noda Senyawa (23-*E*)-27-*nor*-3 β -hidroksisikloart-23-en-25-on.

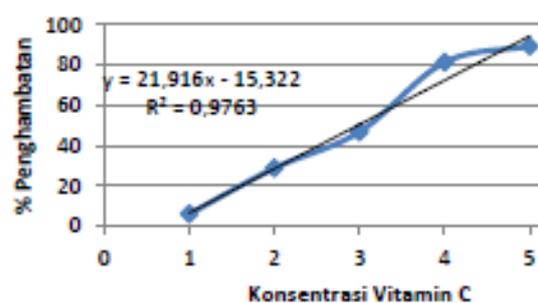
Uji ini akan positif jika terbentuk noda berwarna kuning dengan latar ungu. Hasil menunjukkan timbulnya noda putih kekuningan. Hal ini menunjukkan bahwa memiliki daya penangkal radikal DPPH.

B. Penentuan Daya Antioksidan

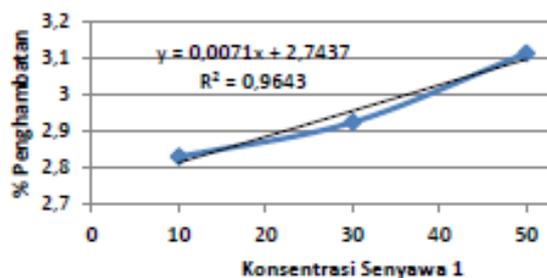
Pengukuran daya antioksidan dilakukan dengan mengukur absorbansi DPPH pada spektrometer UV, setelah direaksikan dengan senyawa yang akan diukur daya antioksidannya. Pengukuran dilakukan pada panjang gelombang maksimum untuk DPPH. Panjang gelombang maksimum (λ_{max}) berguna agar absorbansi DPPH pada saat pengukuran adalah absorbansi maksimum. Panjang gelombang maksimum setelah dilakukan pengukuran adalah 517 nm.

Besarnya daya antioksidan suatu senyawa perlu dibandingkan dengan suatu pembanding sebagai kontrol positif untuk

mengetahui seberapa besar aktivitasnya. Senyawa yang digunakan sebagai kontrol positif harus telah terbukti memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi. Sebagai kontrol positif digunakan asam askorbat (vitamin C). Pengukuran dilakukan menggunakan spektrometer UV untuk menentukan nilai absorbansinya, kemudian dibuat kurva linear untuk menentukan IC_{50} vitamin C dan senyawa. Hasilnya pengukuran untuk vitamin C adalah IC_{50} sebesar 2,98 dengan grafik seperti Gambar 2 dan hasil pengukuran absorbansi Senyawa dilakukan dan didapatkan kurva seperti Gambar 3.



Gambar 2. Grafik hubungan konsentrasi vitamin C dan % Penghambatan



Gambar 3. Grafik hubungan konsentrasi senyawa 1 dan % Penghambatan

Hasil pengukuran absorbansi dilakukan dan didapatkan IC_{50} untuk senyawa dari kurva linier nilai IC_{50} sebesar 6.751 ppm. Hal ini menunjukkan tidak aktif antioksidan karena nilai IC_{50} diatas nilai kisaran untuk senyawa aktif antioksidan, yaitu maksimal 200 ppm. Hal ini dapat dikarenakan daya redam senyawa tersebut terhadap radikal DPPH sangat lemah.

IV. KESIMPULAN

Kesimpulan yang dapat diperoleh dari penelitian ini adalah hasil uji antioksidan menunjukkan senyawa memiliki daya redam radikal yang lemah dengan IC_{50} sebesar 6.751 ppm, sehingga dapat dikatakan tidak aktif sebagai senyawa antioksidan, tetapi dari studi literatur senyawa tersebut memiliki aktivitas sitotoksitas.

DAFTAR PUSTAKA

- Chiang, Y.M., J.K. Su, Y.H. Liu, & Y.H. Kuo. 2001. New Cyclopropyl-Triterpenoids from the Aerial Roots of *Ficus microcarpa*. *Journal Chem. Pharm. Bull.* 49(5) 581—583 (2001).
- Hanani, E., A. Mun'im., & R. Sekarini. 2005. Identifikasi Senyawa Antioksidan dalam Spons *Callyspongia sp* dari Kepulauan Seribu. *Majalah Ilmu Kefarmasian.* 2 (3) : 127-133.
- N'Guessan, J.D.N., A.P.Bidié, B.N.Lenta, B. Weniger, P. André, & F. Guédé-Guina. 2007. In vitro Assays for Bioactivity-guided Isolation of Antisalmonella and Antioxidant Compound in *Thonningia sanguinea* flowers. *African Journal of Biotechnology.* Vol. 6, No.14 : 1685-1689.
- Reynertson, K.A. 2007. *Phytochemical Analysis of Bioactive Constituents from Edible Myrtaceae Fruit, Dissertation.* The City University of New York. New York.
- Rivera D.G., I.H. Balmaseda, A.A. Leon, B.C. Hernandez, L.M. Montiel, G.G. Garrido, S. Cuzzocrea, & R.D. Hernandez. 2006. Anti-allergic properties of *Mangifera indica* L. extract (Vimang) and contribution of its glucosylxanthone mangiferin. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 58: 385-392.
- Ribeiro, S.M.R. 2007. Antioxidants in Mango (*Mangifera indica* L.) Pulp. *Journal Plant Foods for Human Nutrition* 62:13-17.
- Siska. 2010. *Karakterisasi Struktur dan Uji Aktivitas Antioksidan Senyawa Fenolat dari Kulit Batang Tumbuhan Binjai (Mangifera caesia).* FMIPA UNLAM. Banjarbaru.
- Zhang, H.J., G.T. Tan, V.D. Hoang, N.V. Hung, N.M. Cuong, D.D. Soejarto, J.M. Pezzuto, & H. H. S. Fong. 2002. Natural Anti-HIV Agents. Part IV. Anti-HIV Constituents from *Vatica cinerea*. *Journal of Institute of Chemistry, National Center for Science and Technology.*