

Skrining Fitokimia dan Uji Kualitatif Aktivitas Antioksidan Tumbuhan Asal Daerah Rantau Kabupaten Tapin Kalimantan Selatan

*Sutomo^{1,5}, Arnida^{1,5}, M. Ikhwan Rizki^{1,5}, Liling Triyasmono^{1,5}, Agung Nugroho^{2,5},
Evi Mintowati^{3,5}, Salamiah^{4,5}

¹ Program Studi Farmasi FMIPA Universitas Lambung Mangkurat Banjarmasin

² Fakultas Pertanian Universitas Lambung Mangkurat Banjarmasin

³ Program Studi Biologi FMIPA Universitas Lambung Mangkurat Banjarmasin

⁴ Fakultas Kehutanan Universitas Lambung Mangkurat Banjarmasin

⁵ Pusat Studi Obat Berbasis Bahan Alam Universitas Lambung Mangkurat Banjarmasin

*Email : suto_farm@yahoo.co.id

ABSTRAK

Kalimantan selatan merupakan salah satu kawasan tropis dengan sumber keanekaragaman hayati yang melimpah. Penelitian ini bertujuan untuk melakukan ekstraksi dan skrining fitokimia terhadap beberapa tumbuhan yang secara etnis digunakan sebagai pengobatan. Metode ini sangat penting untuk mendapatkan gambaran terhadap golongan senyawa yang terkandung dalam tumbuhan obat. Tumbuhan yang diteliti adalah rimpang patiti, kulit batang ambaratan, batang carikang habang, daun puspa, kulit batang balik anging, daun bilaran tapah, dan daun karamunting. Hasil ekstraksi menggunakan etanol 70% rendemen terbanyak adalah daun puspa (30,76%) diikuti secara berturut-turut kulit batang balik angin (27,05%), daun bilaran tapah (23,53%), daun karamunting (10,88%), rimpang patiti (8,48%), batang carikang habang (3,56%), dan kulit batang ambaratan (2,04%). Skrining fitokimia menunjukkan bahwa rimpang patiti mengandung senyawa golongan flavonoid, fenol, tanin, saponin, dan terpenoid. Kulit batang ambaratan mengandung senyawa golongan alkaloid, flavonoid, fenol, tanin dan antraknon. Batang carikang habang mengandung senyawa golongan alkaloid, flavonoid, fenol, tanin, saponin, steroid, dan antrakuion. Daun puspa mengandung senyawa golongan alkaloid, flavonoid, fenol, saponin, dan terpenoid. Kulit batang balik anging mengandung senyawa golongan alkaloid, flavonoid, fenol, tanin, terpenoid, dan antrakuion. Daun bilaran tapah mengandung senyawa golongan alkaloid, flavonois, fenol, tanin, saponin, terpenoid, dan antrakuion. Daun karamunting mengandung senyawa golongan alkaloid, flavonois, fenol, tanin, saponin, dan terpenoid. Hasil uji aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode DPPH melalui kromatpgrafi lapis tipis menunjukkan bahwa ketujuh tumbuhan yang diuji mengandung senyawa yang bersifat antioksidan.

Kata kunci : eksplorasi, ekstraksi, skrining fitokimia, antioksidan.

ABSTRACT

Kalimantan Selatan is a province in the southern of Borneo island. As one of the tropical areas, this province has a high biological diversity. The recent study aims to identify the secondary metabolites through screening test and evaluate the antioxidative capacities of several medicinal plants growing in Tapin regency. Seven plants used in this study were: the rhizome of Patiti (RP), the bark of Ambaratan (BA), the stem of Carikang Habang (SC), leaves of Puspa (LP), the bark of Balik Angin (BB), leaves of Bilaran Tapah (LB), and leaves of Karamunting (LK). Arranged from the highest to the lowest, the yield of 70% ethanol extracts were 30.76% (LP), 27.05% (BB), 23.53% (LB), 10.88% (LK), 8.48% (RP), 3.56% (BC), and 2.04% (BA). The phytochemical screening test shown that flavonoid, phenolic, tanin, saponin, and terpenoid were detected in RP. In BA, alkaloid, flavonoid, phenolic, tanin, and antraquinon were identified. SC possessed alkaloid, flavonoid, phenolic, tanin, saponin, steroid, and antraquinon. LP had alkaloid, flavonoid, phenolic, saponin, and terpenoid. BB contained alkaloid, flavonoid, phenolic, tanin, terpenoid, and antraquinon. LB shown the presence of alkaloid, flavonoid, phenolic, tanin, saponin, terpenoid, and antraquinon. Meanwhile, LK indicated the presence of alkaloid, flavonoid, phenolic, tanin, saponin, and terpenoid. Antioxidant analysis of the seven extracts using DPPH showed that all the tested plants possessed the active compounds with antioxidative effects.

Keywords: exploration, extraction, phytochemical screening, antioxidant.

I. PENDAHULUAN

Bahan obat yang berasal dari alam secara turun-temurun telah digunakan di Indonesia untuk mengatasi berbagai penyakit (Elfahmi *et al*, 2014). Metabolit sekunder yang ada di dalam bagian dari tumbuhan memiliki banyak khasiat dalam mengatasi berbagai penyakit, terutama untuk penyakit degeneratif (Heinrich *et al*, 2012). Efek sinergisme antar senyawa metabolit sekunder menyebabkan kemampuan bahan alam dapat melebihi kemampuan obat sintesis yang hanya terdiri dari senyawa tunggal (Bone & Mills, 2013). Untuk pengembangan obat bahan alam yang lebih komprehensif dapat dilakukan isolasi senyawa aktif

melalui pendekatan metode *bioassay guided*. Pengembangan obat bahan alam dapat diarahkan pada produk obat tradisional yaitu jamu, herbal terstandar, dan fitofarmaka.

Bedasarkan data *World Health Organization* (WHO) pada tahun 2011, penyakit degeneratif yang disebabkan oleh radikal bebas termasuk dalam penyebab utama kematian manusia (Budilaksono, 2013). Radikal bebas dapat menyebabkan berbagai penyakit seperti kanker, jantung, aterosklerosis, hipertensi diabetes melitus, iskemia, dan neurodegeneratif (Valko, 2007). Senyawa yang dapat menghambat efek radikal bebas di dalam tubuh adalah senyawa antioksidan. Kemampuan

antioksidan suatu tumbuhan dapat dikorelasikan dengan aktivitas tumbuhan tersebut dalam mengatasi berbagai penyakit (Sutomo *et al.*, 2011). Penelitian aktivitas antioksidan merupakan penelitian awal yang bersifat eksploratif untuk menuntun pada khasiat suatu tumbuhan terhadap penyakit degeneratif.

Kalimantan Selatan merupakan salah satu wilayah yang memiliki hutan yang kaya bahan alam yang berkhasiat sebagai obat. Eksplorasi bahan alam yang dapat digunakan sebagai obat penting untuk dilakukan seiring tingginya minat masyarakat terhadap obat herbal. Salah satu hutan lindung yang ada di Kalimantan Selatan yaitu berada di Desa Klumpang Kecamatan Bungur Kabupaten Tapin. Tumbuhan yang tumbuh terdiri dari jenis *Acacia mangium*, *Cassia siamea*, *Gmelina arborea*, *Shorea spp.*, Rotan, Ulin, Mersawa dan lain-lain. Dari hasil inventarisasi BPK diketahui terdapat 120 jenis tumbuhan yang terdiri dari 11 jenis anggrek, 29 jenis tumbuhan obat, dan 80 jenis tumbuhan berguna lainnya (BPK, 2015). Sebanyak 29 jenis tumbuhan obat belum banyak dieksplorasi karena terbatas pada penggunaan empiris di masyarakat. Pada penelitian ini dilakukan eksplorasi terhadap 7 jenis tumbuhan obat terkait kandungan senyawa aktif (skrining fitokimia), skrining kualitatif aktivitas antioksidan, menentukan kekuatan

aktivitas antioksidan berdasarkan nilai *Inhibitory Concentration 50* (IC₅₀), dan penentuan kadar flavonoid total. Hasil eksplorasi dapat dijadikan dasar dalam penelitian yang lebih spesifik terhadap aktivitas tumbuhan tersebut dalam mengatasi penyakit.

II. BAHAN DAN METODE

A. Bahan

Bahan yang digunakan adalah akuades, pelarut etanol 70% teknis, pereaksi DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil), *n*-heksana, etil asetat, asam klorida (HCl) pekat, asam sulfat pekat, plat KLT aluminium sheed 1.05554.0001, kapiler, *n*-heksana pa (merck), etil asetat pa (Merck), dan kertas saring. Sampel yang digunakan adalah 7 jenis tumbuhan obat yang ada di Kawasan Hutan Dengan Tujuan Khusus (KHDTK) Desa Kelumpang Kecamatan Bungur Kabupaten Tapin yang dibawah pengelolaan Balai Penelitian Kehutanan Banjarbaru

B. Pembuatan Serbuk Simplisia

Sampel 7 tumbuhan obat diambil di Desa Kelumpang Kecamatan Bungur Kabupaten Tapin. Pengumpulan dilakukan pada pagi hari. Tumbuhan yang digunakan telah berusia cukup dewasa agar didapatkan senyawa metabolit sekunder yang maksimal dan seragam. Proses penyiapan simplisia dilakukan dengan

melakukan sortasi basah untuk memisahkan kotoran atau bahan asing. Sampel yang diambil dilakukan pencucian dengan air bersih untuk menghilangkan tanah dan pengotor lainnya yang melekat pada bahan, kemudian dilakukan penirisan untuk mengurangi jumlah air yang masih menempel pada simplisia. Perajangan dilakukan untuk memperluas permukaan bahan sehingga mempermudah proses pengeringan. Proses pengeringan dilakukan di bawah sinar matahari tidak langsung, kemudian dilakukan sortasi kering untuk memisahkan bahan organik asing dan simplisia yang rusak akibat proses sebelumnya. Selanjutnya dilakukan penyerbukan terhadap simplisia kering yang diperoleh (BPOM RI, 2013).

C. Pembuatan Ekstrak

Sebanyak 1,0 kg serbuk kering ditimbang seksama kemudian diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan etanol pelarut 70% dengan perbandingan 1 : 2,5. Untuk mempercepat terjadinya difusi dan osmosis maka sesekali dilakukan pengadukan. Setelah 24 jam dilakukan penyaringan menggunakan kain flanel. Filtrat dipisahkan untuk diuapkan sedangkan ampas disari kembali dengan pelarut yang baru. Perlakuan dilakukan sebanyak tiga kali atau cairan ekstrak sudah berwarna bening. Ekstrak cair yang diperoleh dipekatkan menggunakan *rotary*

evaporator, kemudian diuapkan di atas *waterbath* hingga terbentuk ekstrak kental (Jamshidi *et al*, 2014).

D. Skrining Fitokimia

1. Uji Flavonoid

Uji Reagen Alkalin: Sampel (100 mg) dilarutkan dalam 10 mL pelarut, sampel disaring, filtrat (2 mL) ditambah beberapa tetes larutan NaOH. Apabila terbentuk warna kuning dan memudar setelah ditambah dengan asam berarti positif mengandung flavonoid (Tiwari *et al.*, 2011).

Uji Timbal Asetat: Sampel (100 mg) dilarutkan dalam 10 mL pelarut. Sampel disaring, filtrat (2 mL) dimasukkan dalam tabung reaksi, ditambahkan 1 mL Pb asetat 10% dan dikocok. Apabila terjadi perubahan warna menjadi coklat kekuningan berarti positif mengandung flavonoid (Tiwari *et al.*, 2011).

2. Uji Alkaloid

Uji Dragendroff: Sampel (100 mg) dilarutkan dalam 10 mL pelarut. Sampel disaring, filtrat (2 mL) ditambah dengan 1 mL reagen Dragendroff, Terbentuknya endapan merah menunjukkan adanya alkaloid (Tiwari *et al.*, 2011).

Uji Mayer: Sampel (100 mg) dilarutkan dalam 10 mL pelarut. Sampel disaring, filtrat (2 mL) ditambah dengan 1 mL reagen Meyer. Terbentuknya endapan

kuning menunjukkan adanya alkaloid (Tiwari *et al.*, 2011).

3. Uji Tanin

Uji Besi (III) Klorida: Sampel (100 mg) dilarutkan dalam 10 mL pelarut. Sampel disaring, filtrat (2 mL) ditambah dengan 1 mL FeCl₃ 3%. Adanya endapan hijau kehitaman menandakan adanya tanin (Koleva, *et al.*, 2002).

Uji Gelatin: Sampel (100 mg) dilarutkan dalam 10 mL pelarut. Sampel disaring, filtrat (2 mL) ditambah dengan 2 mL larutan gelatin 1% yang mengandung NaCl. Jika terbentuk endapan putih menunjukkan adanya tanin (Tiwari *et al.*, 2011).

4. Uji Saponin

Metode Froth: Sampel (100 mg) dilarutkan dalam 10 mL air dan disaring. Filtrat dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu dikocok. Terdapatnya busa yang stabil menunjukkan adanya saponin (Tiwari *et al.*, 2011)

5. Uji Antrakuinon

Sampel (100 mg) dilarutkan dalam 10 mL akuades. Campuran disaring, filtrat (2 mL) ditambah dengan 5 mL benzena. Hasil ekstrak kemudian ditambah dengan amonia lalu dikocok. Terbentuknya warna merah menunjukkan adanya antrakuinon (Koleva, *et al.*, 2002).

6. Uji Steroid

Libermann Burchard's Test: 50 mg sampel dilarutkan dengan kloroform

kemudian disaring. Filtrat ditambah asam asetat anhidrat lalu dipanaskan dan didinginkan. Ditambahkan asam sulfat pekat melalui dinding tabung secara perlahan-lahan, jika terbentuk cincin coklat menandakan adanya steroid (Tiwari *et al.*, 2011).

Salkowski's Test: 50 mg sampel diekstraksi dengan kloroform kemudian disaring. Filtrat yang diperoleh ditambahkan beberapa tetes asam sulfat pekat, lalu dikocok. Jika campuran berwarna kuning menunjukkan adanya triterpen (Tiwari *et al.*, 2011).

E. Analisis Kualitatif Aktivitas Antioksidan

Analisis kualitatif dilakukan terhadap tumbuhan uji menggunakan reagen spesifik yaitu *2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl* (DPPH) terhadap hasil KLT (kromatogram). Reagent dibuat dengan cara melarutkan DPPH dengan metanol pro analisis dengan konsentrasi 0,02% b/v. Sampel dari ekstrak metanol dan fraksinya dilakukan uji kromatografi lapis tipis (KLT) menggunakan eluen dengan perbandingan yang tepat. Senyawa yang telah terelusi disemprot dengan penampak bercak DPPH 0,02% b/v. Bercak yang dapat menangkap radikal bebas akan menghasilkan warna kuning dengan latar belakang ungu dalam waktu tidak lebih dari 30 menit terindikasi sebagai

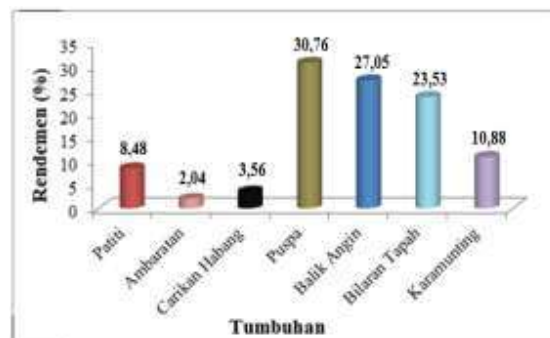
antioksidan (Sutomo *et al.*, 2013; Sutomo *et al.*, 2014).

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian dilakukan terhadap 7 tumbuhan yang meliputi uji makroskopik, uji mikroskopik, skrining fitokimia, dan uji aktivitas antioksidan secara kualitatif. Tumbuhan diambil pada siang hari dimana proses fotosintesis terjadi. Selama proses fotosintesis metabolit sekunder dalam tumbuhan berada pada posisi maksimal. Tumbuhan yang dipilih secara visual tampak sehat, tidak terkena hama, dan terkena sinar matahari yang cukup. Tujuh tumbuhan (berdasarkan nama daerah) yang diteliti adalah patiti, ambaratan, carikang merah, puspa, balik angin, bilarang tapah, dan karamunting.

Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi, yaitu dengan merendam simplisia yang telah diserbukkan dengan pelarut etanol pada suhu kamar. Metode maserasi dipilih karena mengurangi resiko kerusakan senyawa karena pemanasan (*thermolabil*), metode relatif sederhana, dan pelarut yang digunakan relatif sedikit. Etanol merupakan salah satu pelarut yang dapat mengekstraksi sebagian besar golongan senyawa aktif baik yang bersifat polar maupun non polar. Hasil ekstraksi (rendemen) yang diperoleh secara berturut-turut adalah rimpang patiti (8,48%), kulit batang ambaratan (2,04%),

batang carikang habang (3,56%), daun puspa (30,76%), kulit batang balik angin (27,05%), daun bilarang tapah (23,53%), dan daun karamunting (10,88%) (gambar 1).



Gambar 1. Rendemen dari 7 tumbuhan yang diteliti

Skrining fitokimia dilakukan terhadap beberapa golongan kimia yang pada umumnya memiliki aktivitas sebagai obat. Beberapa golongan senyawa yang diuji antara lain adalah alkaloid, flavonoid, fenol, tanin, saponin, terpenoid, steroid, dan antrakuinon. Hasil uji menunjukkan bahwa dari ketujuh tumbuhan mengandung senyawa fenol dan flavonoid (tabel 1).

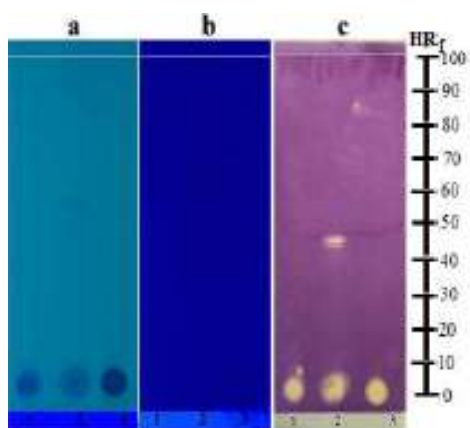
Tabel I. Hasil skrining fitokimia tujuh tumbuhan asal tapin

Senyawa Golongan	Tumbuhan						
	a	b	c	d	e	f	g
Alkaloid	-	+	+	+	+	+	+
Flavonoid	+	+	+	+	+	+	+
Fenol	+	+	+	+	+	+	+
Tanin	+	+	+	-	+	+	+
Saponin	+	-	+	+	+	+	+
Terpenoid	+	-	-	+	-	+	+
Steroid	-	-	+	-	-	-	-
Antrakuinon	-	+	+	-	+	+	-

Keterangan : a. rimpang patiti, b. kulit batang ambaratan, c. batang carikang habang, d. daun puspa, e. kulit batang balik angin, f. daun bilarang tapah, dan g. daun karamunting.

Untuk golongan senyawa steroid hanya tumbuhan carikang habang yang menunjukkan hasil positif.

Analisis kualitatif aktivitas antioksidan dilakukan dengan pereaksi spesifik yaitu larutan *2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl* (DPPH) dalam metanol pada 0,004% b/v. Sebagai obyek terdeteksi adalah hasil kromatogram menggunakan eluen *n*-hexane-etilasetat (1:1)v/v.



Keterangan :

1. Rimpang patiti
2. Kulit batang ambaratan
3. Batang carikang habang

Kromatografi lapis tipis

Eluen : *n*-heksana-etil asetat (1:1)b/v

Penampak bercak :

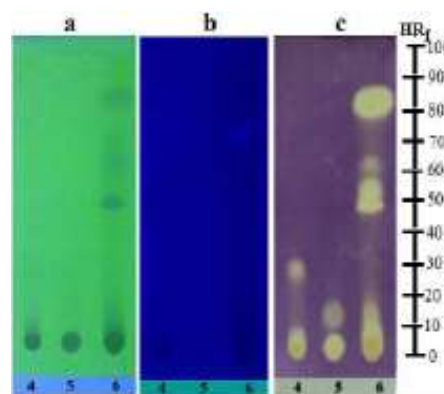
- a. Lampu UV 254 nm
- b. Lampu UV 366 nm
- c. DPPH 0,004% b/v

HRf = 45 bersifat antioksidan (bercak kuning dengan latar belakang ungu)

Gambar 2a. Analisis uji kualitatif dengan metode DPPH terhadap sampel uji

Secara umum eluen yang digunakan belum mampu mendeteksi senyawa antioksidan yang bersifat polar, tetapi gambaran awal aktivitas antioksidan telah ditunjukkan pada penggunaan eluen tersebut. Sifat

antioksidan ditunjukkan dengan warna bercak berubah menjadi kuning dengan latar belakang ungu pada kromatogram setelah disemprot dengan larutan DPPH (gambar 2a; 2b).



Keterangan :

4. Daun puspa
5. Kulit batang balik angin
6. Daun bilarang tapah

Kromatografi lapis tipis

Eluen : *n*-heksana-etil asetat (1:1)b/v

Penampak bercak :

- a. Lampu UV 254 nm
- b. Lampu UV 366 nm
- c. DPPH 0,004% b/v

HRf = 82 bersifat antioksidan (bercak kuning dengan latar belakang ungu)

Gambar 2b. Analisis uji kualitatif dengan metode DPPH terhadap sampel uji

Dari hasil uji diketahui bahwa beberapa senyawa yang terdapat dalam sampel bersifat antioksidan. Sifat yang mencolok dapat dilihat pada gambar 2b, dimana hasil kromatogram sampel daun bilarang tapah terdapat beberapa senyawa yang bersifat antioksidan

IV. KESIMPULAN

Dari hasil penelitian dapat diambil suatu kesimpulan bahwa :

1. Rendemen ekstrak etanol yang paling besar adalah daun puspa (30,76%), dilanjutkan berturut-turut batang balik angin (27,05%), daun bilarang tapah (23,53%), daun karamunting (10,88%), rimpang patiti (8,48%), batang carikang habang (3,56%), dan kulit batang ambaratan (2,04%).
2. Skrining fitokimia menunjukkan bahwa semua sampel uji mengandung golongan senyawa flavonoid dan fenol
3. Sampel yang diuji mengandung senyawa antioksidan

UCAPAN TERIMAKASIH

Terimakasih kepada Pemprov Kalimantan Selatan yang telah memberikan bantuan dana dalam penelitian ini melalui Rektor Universitas Lambung Mangkurat dan telah dilaksanakan oleh Pusat Studi Obat Berbasis Bahan Alam.

DAFTAR PUSTAKA

- Badan Penelitian Kehutanan, 2015, *Kawasan Hutan Dengan Tujuan Khusus (KHDTK) Rantau*, <http://foreibanjarbaru.or.id/khdtk-2/rantau>.
- Bone, K., and Mills, S., 2013, *Principles and Practice of Phytotherapy, Second Edition*, Churchill Livingstone Elsevier, New York.
- Budilaksono, Widyo, Sri W., Andhi F. 2013. Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi N-heksana Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus lemairei britton dan rose*) Menggunakan Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil)
- Elfahmi., Woerdenbag, H., Kayser, O., 2014, Jamu: Indonesian traditional herbal medicine towards rational phytopharmacological use, *Journal of Herbal Medicine*, 4 (2014), 51–73
- Heinrich, M., Barnes, J., Gibbons, S., Williamson, E, 2012, *Fundamentals of Pharmacognosy and Phytotherapy*, Churchill Livingstone Elsevier, New York
- Javanmardi, J., Stushnoff, C., Locke, E., and Vivanco, J.M. 2003. Antioxidant Activity and Total Phenolic Content of Iranian *Ocimum* Accessions. *Journal Food Chem.* 83 (4) : 547-550
- Koleva, I. I., Van Beek T. A., Linssen J. P. H., Groot A. De, Evstatieva L. N. 2002. Screening of Plant Extract for Antioxidant Activity: A Comparative Study On Three Testing Methods. *Phytochemical Analysis.* 13 : 8-17
- Sutomo, Wahyuono, s., Rianto, S., Setyowati, E.P., Yuswanto, A., 2011, Antioxidant and Immunomodulatory Activity of Isolated Compounds Of *Kasturi* Fruit (*Mangifera casturi* Kosterm.) from South Borneo Indonesia. *Disertation*, Faculty Of Pharmacy Gajah Mada Univercity Yogyakarta.
- Sutomo, Wahyuono, s., Rianto, S., and Setyowati, E.P., 2013, Isolation and identification of actives compound of n-hexane fraction from *kasturi* (*Mangifera casturi* Kosterm.) against antioxidant and immunomodulatory activity, *J. Biol. Sci.* 13(7) : 596-604.

- Sutomo, Wahyuono, s., Rianto, S., Setyowati, E.P., Yuswanto, A., 2014, Antioxidant activity assay of extracts and active fractions of kasturi fruit (*Mangifera casturi* Kosterm.) using 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl method. *J. Nat. Prod.* (7) : 124-130.
- Tiwari, Prashant., Bimlesh Kumar, Mandeep Kaur, Gurpreet Kaur, Harleen Kaur. 2011. Phytochemical Screening and Extraction : A Review. *International Pharmaceutica Scientia.* 1 (1) : 98-106.
- Valko, M., Dieter L., Jan M., Mark T. D. C., Milan M. Joshua T. 2007. Free Radicals and Antioxidants in Normal Physiological Functions and Human.