

IDENTIFIKASI KOMPONEN KIMIA DAN UJI DAYA ANTIOKSIDAN EKSTRAK BUAH DENGEN (*Dillenaserrata*Thunbr.)

Reny syahrani, Syamsu Nur

Akademi Farmasi Kebangsaan Makassar
Jl. Perintis Kemerdekaan Km 13,7 Daya, Makassar
Email : reny.syahrani@yahoo.com

ABSTRAK

Flavonoid merupakan salah satu komponen kimia yang sering dilaporkan memiliki aktivitas farmakologi terhadap pengobatan atau pencegahan penyakit. Flavonoid termasuk senyawa fenolik alam yang potensial sebagai antioksidan dan mempunyai bioaktivitas sebagai obat. Dengen (*Dillenaserrata* Thunbr.) merupakan salah satu buah lokal dari Sulawesi Selatan yang belum banyak dilaporkan aktivitas farmakologiknya dan berpotensi sebagai antioksidan. Skrining fitokimia ekstrak etanol buah dengan yang diekstraksi secara maserasi menggunakan etanol 70% mengandung tanin, flavonoid dan saponin. Kadar flavonoid total ekstrak berdasarkan nilai kesetaraan rutin diperoleh sebesar 15,25 µg/ml (3,05%). Aktivitas antioksidan yang ditentukan berdasarkan metode DPPH menunjukkan bahwa ekstrak etanol buah dengan, fraksi air, fraksi etil asetat dan fraksi heksan memiliki aktivitas sebagai antioksidan dengan nilai IC₅₀ berturut-turut 200,9 ppm, 103 ppm, 108,4 ppm dan 135,2 µg/ml. Aktivitas antioksidan fraksi air lebih kuat dibandingkan fraksi etil asetat, fraksi heksan dan ekstrak etanol buah dengan namun masih lebih rendah dibandingkan vitamin C yang memiliki nilai IC₅₀ sebesar 2,76 µg/ml.

Kata kunci : Dengen, *Dillenia serrata* Thunbr., antioksidan, flavonoid.

PENDAHULUAN

Indonesia memiliki kekayaan alam dengan berbagai jenis tumbuhan berkhasiat sebagai obat. Obat tradisional telah dikenal dan digunakan secara turun temurun oleh masyarakat Indonesia. Pada zaman dahulu masyarakat mengenal dan menggunakan tumbuhan sebagai salah satu upaya dalam penanggulangan masalah kesehatan. Penggunaan tanaman sebagai bahan obat tradisional memerlukan penelitian ilmiah untuk mengetahui komponen aktif yang terdapat di dalamnya (Haris, 2011).

Salah satu tumbuhan dari famili Dilleniaceae yang belum diketahui potensinya secara ilmiah yaitu *Dillenaserrata* Thunbr. Atau dikenal dengan buah dengan. Dengen merupakan salah satu buah lokal dari Sulawesi Selatan. Dengen tersebar luas di Kabupaten Luwu. Tanaman dengan tumbuh liar di hutan dan pekarangan masyarakat. Kekhasan yang dimiliki oleh buah dengan ini terutama adalah pada rasa asam yang menyegarkan dan warna buah yang menarik. Selain itu

buah dengan mengandung vitamin C lebih dari 84% yang baik dikonsumsi oleh tubuh (Hasniarti, 2012). Secara empiris, kulit kayu buah dengan digunakan untuk pengobatan muntah darah sedangkan buahnya hanya untuk dimakan (Florentina, dkk., 2006).

Penelitian mengenai buah dengan belum banyak dilaporkan terutama mengenai profilfitokimia maupun aktivitas farmakologinya. Oleh karena itu pada penelitian ini akan dilakukan identifikasi komponen kimia dengan penentuan kadar flavonoid total yang terdapat pada ekstrak buah dengan dan dilanjutkan dengan pengujian daya antioksidan dari ekstrak dan fraksi buah dengan.

METODE PENELITIAN

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan yaitu aquadest, aquabidest, etanol 70%, etanol absolut pa, metanol, n-heksan, etilasetat, n-butanol, petroleum eter, amoniak P, kloroform, Lempeng KLT GF 254, DPPH (1,1-diphenyl-1-picrylhydrazil), buah dengan (*Dillenia serrata* Thunbr.), vitamin C, HCl Pekat, HCl 2N, asam asetat anhidrat, H₂SO₄ pekat, pereaksi Mayer, pereaksi Dragendorf, pereaksi Wagner, NaNO₂ 5%, NaOH 1 M, larutan NaCl, larutan FeCl₃, serbuk Mg, rutin, AlCl₃ 10%, dan kalium asetat 1M.

A. Penyiapan Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan yaitu buah dengan yang diambil di daerah Malili, kabupaten Luwu Timur, Sulawesi Selatan. Kulit buah dengan dikupas dan diambil bagian daging buahnya, dicuci bersih dengan air mengalir lalu ditiriskan. Daging buah dengan selanjutnya dikeringkan di lemari pengering. Simplisia yang telah kering kemudian diserbukkan.

B. Ekstraksi Sampel

Simplisia buah dengan sebanyak 100 gram diekstraksi secara maserasi 3x24 jam dengan 1000 mL etanol 70%. Filtrat dipisahkan, kemudian residu di maserasi kembali dengan perlakuan yang sama hingga seluruh komponen senyawa terekstraksi secara sempurna. Filtrat yang diperoleh dikumpulkan kemudian diuapkan hingga diperoleh ekstrak kental.

C. Fraksinasi

Ekstrak kental sebanyak 10 gram dilarutkan dalam 50 mL aquadest dan dimasukkan ke dalam corong pisah. Ekstrak difraksinasi berturut-turut dengan n-heksan, etil asetat, dan n-butanol. Masing-masing fraksi dikumpulkan dan diuapkan.

D. Identifikasi Komponen Kimia

1. Identifikasi Alkaloid

Ekstrak ditimbang sebanyak 1 g dan dilarutkan dengan 5 mL amoniak P, lalu ditambahkan 20 mL kloroform.

Campuran dikocok dan didiamkan hingga diperoleh lapisan air dan lapisan pelarut organik. Lapisan air dipisahkan dan dibagi ke dalam 3 tabung dan ditambahkan 2 tetes pereaksi Dragendorf, Mayer dan Wagner ke dalam masing-masing tabung yang berbeda. Jika terbentuk endapan merah jingga dengan pereaksi Dragendorf, atau terbentuk endapan putih dengan pereaksi Mayer dan endapan coklat dengan pereaksi Wagner maka dinyatakan positif mengandung alkaloid.

2. Identifikasi steroid/terpenoid

Ekstrak sebanyak 1 g dilarutkan dengan 10 mL petroleum eter, distirer selama 1 jam kemudian disaring. Filtrat ditambahkan 3 tetes asam asetat anhidrat dan 1 tetes asam sulfat pekat secara berurutan. Larutan dikocok perlahan-lahan dan dibiarkan beberapa menit. Uji positif ditandai dengan terbentuknya warna merah atau ungu untuk terpenoid serta hijau atau biru untuk steroid.

3. Identifikasi Tanin

Ekstrak sebanyak 1 g dilarutkan dalam 100 mL aquadest kemudian dipanaskan selama 5 menit lalu disaring. Sebanyak 5 mL filtrat ditambahkan FeCl_3 . Uji positif ditandai munculnya warna hijau kehitaman.

4. Identifikasi saponin

Sebanyak 1 g ekstrak dilarutkan dalam 100 mL aquadest dan dididihkan selama 5 menit lalu disaring. Sebanyak

5 mL filtrat dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan dikocok kuat-kuat selama 10 detik. Jika terbentuk buih atau busa yang stabil selama 10 menit, setinggi 1 cm dan pada penambahan 1 tetes asam klorida 2 N, buih tidak hilang maka dinyatakan positif mengandung saponin.

5. Identifikasi Flavanoid

Ekstrak ditimbang sebanyak 1 g kemudian ditambahkan 5 mL kloroform dan 5 mL aquadest, kemudian dimasukkan dalam corong pisah. Lapisan air dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan serbuk Mg dan 0,5 mL HCl P. Jika terbentuk warna merah atau jingga positif mengandung senyawa flavon sedangkan warna hijau positif mengandung aglikon atau glikosida. (Mojab, dkk., 2003)

E. Penentuan Kadar Flavonoid Total

1. Pembuatan Kurva Baku

Sebanyak 5 mg rutin dilarutkan dengan metanol hingga 5 mL untuk membuat larutan stok 1000 ppm. Larutan stok dipipet 50 μL , 100 μL , 150 μL , 200 μL dan 250 μL ke dalam labu ukur dan ditambahkan metanol hingga 5 mL sehingga diperoleh konsentrasi 10, 20, 30, 40 dan 50 ppm. Masing-masing konsentrasi dipipet 1 mL lalu dimasukkan ke dalam vial yang sebelumnya sudah ditambahkan 4 mL aquabidest dan 0,3 mL NaNO_2 5%, dibiarkan selama 5 menit. Larutan ditambahkan 0,3 mL AlCl_3 10% dan

dibiarkan selama 6 menit, kemudian ditambahkan 2 mL NaOH 1 M, dicukupkan volumenya dengan aquabidest hingga 10,0 mL dan dikocok. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 358 nm.

2. Penentuan Kadar Flavanoid Total Ekstrak

Ekstrak etanol buah dengan dibuat larutan stok 1000 ppm dengan menimbang sebanyak 5 mg ekstrak kemudian dilarutkan dalam metanol hingga 5,0 mL. Larutan stok diencerkan untuk membuat larutan 10 ppm, kemudian dipipet 1 mL dan ditambahkan 4 mL aquabidest dan 0,3 mL NaNO_2 5%, dibiarkan selama 5 menit. Larutan ditambah dengan 0,3 mL AlCl_3 10% dan dibiarkan selama 6 menit, ditambahkan 2 mL NaOH 1 M dan dicukupkan volumenya dengan aquabidest hingga 10,0 mL. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 358 nm.

F. Uji Aktivitas Antioksidan

1. Uji Pendahuluan

Fraksi yang dihasilkan kemudian dilanjutkan ke KLT, noda yang terbentuk dari hasil KLT lalu disemprot dengan larutan 0,4% DPPH dalam etanol absolut. Noda diperiksa 30 menit setelah penyemprotan. Adanya aktivitas antioksidan ditandai dengan bercak warna kuning dengan latar belakang ungu. Fraksi yang memberikan hasil positif dipilih untuk pengujian aktivitas antioksidan lebih

lanjut.

2. Pembuatan Larutan DPPH 0,4 mM

Larutan DPPH 0,4 mM ditimbang sebanyak 0,0157 gram dilarutkan sampai 100 ml dengan etanol absolut dalam labu ukur.

3. Pengukuran Serapan Blanko

Pengujian dilakukan dengan cara memipet 1,0 mL DPPH 0,4 mM dan dicukupkan volumenya dengan etanol absolut hingga 5,0 mL. Larutan dihomogenkan dan dibiarkan selama 30 menit, selanjutnya diukur panjang gelombang maksimum pada spektrofotometer UV-Vis dengan mengukur absorbansinya pada panjang gelombang 450-600 nm.

4 Uji Daya Antioksidan Ekstrak dan Fraksi Buah Dengan

Larutan stok 1000 ppm disiapkan dengan cara menimbang 50 mg masing-masing sampel dan dilarutkan dengan etanol absolut hingga 50,0 mL. Larutan stok masing-masing dipipet sesuai dengan konsentrasi yang diinginkan, ditambahkan 1,0 mL DPPH dan dicukupkan volumenya hingga 5,0 mL dengan etanol absolut. Campuran dihomogenkan dan diinkubasi selama 30 menit, selanjutnya diukur absorbansinya pada panjang gelombang 516 nm.

G. Uji Daya Antioksidan Vitamin C

Larutan stok vitamin C 100 ppm dibuat dengan cara menimbang 10 mg vitamin C dan dilarutkan dengan aquadest hingga 100,0 mL. Larutan

stok dipipet masing-masing 100 µL, 200 µL, 300 µL, 400 µL, 500 µL ke dalam labu ukur kemudian ditambahkan 1,0 mL DPPH dan dicukupkan volumenya dengan etanol absolut sampai 5,0 mL sehingga diperoleh konsentrasi 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm dan 10 ppm. Campuran dihomogenkan dan diinkubasi selama 30 menit, kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang 516 nm.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Proses ekstraksi buah dengan dengan metode maserasi menggunakan etanol 70% yang dilakukan beberapa kali hingga diperoleh ekstrak total menghasilkan ekstrak kental sebanyak 23,5 gram dengan rendamen sebesar 14,68%. Ekstrak total yang difraksinasi berdasarkan tingkat kepolaran pelarut menghasilkan fraksi dengan jumlah terbanyak pada fraksi air dibandingkan fraksi heksan, etil asetat dan butanol. Oleh karena itu maka diasumsikan bahwa dalam ekstrak etanol buah dengan terkandung lebih banyak senyawa polar. Hal ini didukung dengan hasil identifikasi komponen senyawa kimia dimana ekstrak etanol buah dengan mengandung tanin, saponin dan flavonoid.

Tabel 1. Rendamen hasil ekstraksi dan fraksinasi

No.	Sampel	Bobot (g)
1.	Ekstrak buah dengan	23,5
2.	Fraksi n-heksan	2,2
3.	Fraksi etil asetat	0,7
4.	Fraksi n-butanol	8,8
5.	Fraksi air	10,41

Flavonoid merupakan salah satu komponen kimia yang sering dilaporkan memiliki aktivitas farmakologi terhadap pengobatan atau pencegahan penyakit. Flavonoid termasuk senyawa fenolik alam yang potensial sebagai antioksidan dan mempunyai bioaktivitas sebagai obat. Analisis kuantitatif flavonoid total ekstrak buah dengan ditentukan dengan memplotkan hasil pengukuran absorbansi ekstrak buah dengan pada kurva baku seri konsentrasi rutin. Rutin digunakan sebagai pembanding untuk penentuan kadar flavonoid karena merupakan glikosida flavonol yang terdiri dari disakarida dan kuarsetin rutinosa (Sun, et al., 2011).

Berdasarkan hasil pengukuran absorbansi larutan rutin pada 5 seri konsentrasi diperoleh kurva dengan persamaan regresi $y = 0,002x + 0,0005$ dengan nilai koefisien korelasi (r^2) sebesar 0,9918. Hasil pengukuran absorbansi dari ekstrak yang telah diplotkan terhadap kurva baku menghasilkan konsentrasi kesetaraan

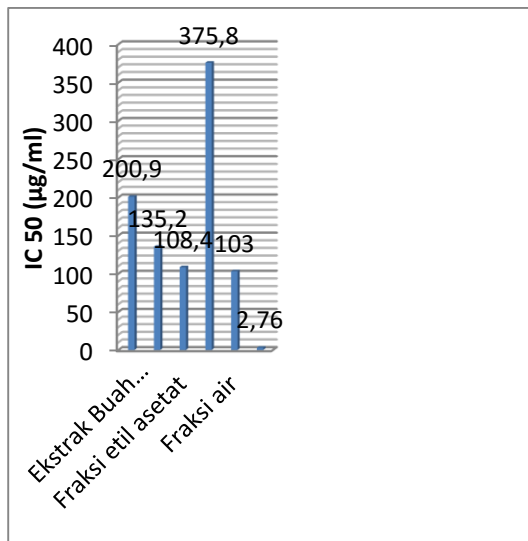
rutin sebesar 15,25 µg/mL sehingga diperoleh kadar flavonoid total pada ekstrak buah dengan sebesar 3,05%.

Perbedaan kelarutan senyawa-senyawa yang berpotensi sebagai antioksidan dalam beberapa pelarut yang berbeda kepolarannya diharapkan memberikan tingkatan aktivitas antioksidan yang berbeda. Oleh karena itu dilakukan penentuan aktivitas antioksidan terhadap ekstrak dan fraksi. Tahap awal dilakukan dengan melakukan analisis secara kualitatif dengan melihat perubahan pada warna pada bercak fraksi pada lempeng KLT yang telah disemprot DPPH. Hasil menunjukkan semua fraksi memberikan perubahan warna yang menandakan adanya kemungkinan potensi antiosidan. Oleh karena itu pengujian semua fraksi dilanjutkan dengan pengukuran daya antioksidan secara kuantitatif dengan metode DPPH yang bekerja berdasarkan kemampuan menghambat radikal bebas dengan mendonorkan atom hidrogen. Selain itu, metode ini juga merupakan metode yang cepat, sederhana dan mudah (Prakash et al., 2001). Parameter yang digunakan untuk menunjukkan aktivitas antioksidan adalah inhibition concentration (IC_{50}). Penentuan IC_{50} dari ekstrak dan fraksi bertujuan untuk memperoleh kadar ekstrak yang dapat menurunkan intensitas serapan atau penangkapan radikal bebas DPPH sebesar 50%, yang dihitung secara

regresi linier berdasarkan 5 seri konsentrasi dengan memplotkan nilai log konsentrasi dan probit persen penghambatan DPPH.

Hasil pengukuran daya antioksidan menunjukkan bahwa beberapa fraksi menunjukkan aktivitas yang lebih tinggi dibandingkan ekstrak. Menurut Blois (1958), suatu senyawa memiliki antioksidan sangat kuat apabila nilai IC_{50} kurang dari 50 ppm, kuat apabila berkisar 50-100 ppm, sedang apabila nilai IC_{50} berkisar 100-150 ppm dan lemah apabila nilai IC_{50} berkisar 150-200 ppm. Ekstrak etanol buah dengan dikategorikan memiliki daya antioksidan yang lemah, hal ini kemungkinan dipengaruhi oleh masih banyaknya komponen senyawa yang terkandung dalam ekstrak tersebut. Aktivitas antioksidan sedang ditunjukkan oleh fraksi etil asetat, fraksi heksan dan fraksi air. Hal ini disebabkan oleh kelarutan senyawa-senyawa yang berpotensi sebagai antiosidan seperti flavonoid dan senyawa fenolik lainnya cenderung lebih larut dalam pelarut dengan kepolaran yang tinggi. Fraksi butanol dianggap tidak memberikan nilai aktivitas sebagai antioksidan, hal ini juga dipengaruhi oleh kelarutan dari ekstrak yang kurang optimal pada pembuatan larutan uji. Daya antioksidan ekstrak dan fraksi dibandingkan dengan vitamin C

sebagai baku pembanding yang memberikan aktivitas antioksidan yang sangat kuat. Nilai aktivitas yang sangat kuat ini dapat dipengaruhi oleh vitamin yang merupakan senyawa murni. Berdasarkan hal tersebut, maka penentuan aktivitas fraksi air yang memberikan aktivitas lebih tinggi dibandingkan ekstrak dan fraksi lainnya dapat dikembangkan dengan melakukan isolasi lebih lanjut terhadap senyawa yang berpotensi sebagai antioksidan.



Gambar 1. Grafik perbandingan daya antioksidan ekstrak dan fraksi buah dengan.

Nilai aktivitas yang sangat kuat ini dapat dipengaruhi oleh vitamin yang merupakan senyawa murni. Berdasarkan hal tersebut, maka penentuan aktivitas fraksi air yang memberikan aktivitas lebih tinggi dibandingkan ekstrak dan fraksi lainnya dapat dikembangkan dengan melakukan isolasi lebih lanjut

terhadap senyawa yang berpotensi sebagai antioksidan.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil skrining komponen kimia ekstrak etanol buah dengan mengandung tanin, saponin dan flavonoid. Kadar flavonoid total berdasarkan nilai kesetaraan rutin 15,25 µg/ml. diperoleh sebesar 3,05 %. Aktivitas antioksidan ditunjukkan oleh ekstrak etanol buah dengan, fraksi air, fraksi etil asetat dan fraksi heksan. Aktivitas antioksidan fraksi air lebih kuat dibandingkan fraksi etil asetat, fraksi heksan dan ekstrak etanol buah dengan.

KEPUSTAKAAN

- Blois, M.S. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Journal Nature*. 181 (4617).1199-1200. 1958.
- Florentina, Mulyati.Tahan dan Himma. Pemanfaatan Tumbuhan Sebagai Bahan Obat.Pusat Penelitian Biologi. Bogor. hal333-339. 2006.
- Haris,M.Penentuan Kadar Flavanoid Total dan Aktivitas Antioksidan dari Daun Dewa (*Gynurapseudochina*(Lour) dengan Spektrofotometer UV-Vis.Fakultas Farmasi. Universitas Andalas. Padang. hal3-5. 2011
- Hasniarti. Studi Pembuatan Permen Buah Dengan (*Dillenia serrata* Thumb). Universitas Hasanuddin Makassar. 2012.
- Mojab, F., Kamalinejad, M., Ghaderi, N., dan Vahidi pour, H. Photochemical screening of some species of some iransan plants. *IJPR*. 2, 78. 2003.

Sun, T., Jiang, B. And Pan. Microwave accelerated transglycosylation of rutin by cyclodextrin glucanotransferase from *Bacillus* sp. SK13. 002. *Lat Journal Mol. Sciences*.12 : 3786-3796. 2011