

Isolasi Senyawa Antioksidan dari Daun Mareme (*Glochidion borneense*, (Müll. Arg.) Boerl.)

Isolate Antioxidant Compound of Fresh Mareme Leaves (*Glochidion borneense*, (Müll. Arg.) Boerl.)

¹Arlina Hijjah Fauziah, ²Kiki Mulkiya Y., ³Undang A. Dasuki,
^{1,2,3}Prodi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Bandung,
Jl. Tamansari No.1 Bandung 40116
email: ¹arlinafauziah12@gmail.com, ²qqmulkiya@gmail.com, ³undangdasuki@gmail.com.

Abstract. This research was done to isolate antioxidant compounds of fresh mareme (*Glochidion borneense*, (Müll. Arg.) Boerl.) leaves. The extraction method was using graded maceration with a different polarity solvent i.e. n-hexane, ethylacetate and methanol. Antioxidant activity was tested qualitatively, using thin layer chromatography method (TLC) with spray reagent DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl). The methanol extract showed better antioxidant activity than n-hexane extract and ethylacetate extract. The methanol extract were fractionated using classic column chromatography method with isocratic elution method using n-hexane : chloroform (4:6) as solvent. The fraction number 1, 5, 10, 15 and 20 monitored by thin layer chromatography method (TLC) using mobile phase n-hexane : chloroform (4:6) and using spray reagent DPPH. The fraction number 5 refined with TLC-preparative using n-hexane : chloroform (5:5) as solvent. The ribbon with Rf 0,74 scraped until isolate was obtained. The purity test of isolate using TLC single developer showed 1 spot. Characterization of isolate using spectrophotometer UV-Vis showed absorption at λ 240 nm and characterization using spotting visible FeCl₃ showed spotting a green to black colour expected that isolate was a phenolate compound.

Keywords: mareme (*Glochidion borneense*, (Müll. Arg.) Boerl.) leaves, antioxidant, DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl).

Abstrak. Telah dilakukan penelitian untuk mengisolasi senyawa antioksidan dari daun mareme (*Glochidion borneense*, (Müll. Arg.) Boerl.) segar. Ekstraksi dilakukan secara maserasi bertingkat menggunakan pelarut dengan kepolaran berbeda yaitu n-heksana, etilasetat, dan metanol. Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan secara kualitatif, menggunakan metode kromatografi lapis tipis (KLT) dengan pereaksi semprot DPPH. Ekstrak metanol daun mareme menunjukkan aktivitas antioksidan lebih baik dari ekstrak daun mareme n-heksana dan ekstrak etil asetat. Ekstrak metanol daun mareme di fraksinasi secara metode kromatografi kolom klasik dengan metode elusi isokratik, menggunakan campuran pelarut n-heksana : kloroform (4:6). Fraksi 1, 5, 10, 15, dan 20 dipantau dengan menggunakan metode kromatografi lapis tipis (KLT) dengan fase gerak n-heksana : kloroform (4:6) dan penampak bercak DPPH. Fraksi 5 dimurnikan secara KLT-preparatif menggunakan fase gerak n-heksana : kloroform (5:5). Pita pada Rf 0,74 dikerok sehingga diperoleh isolat. Uji kemurnian isolat menggunakan KLT pengembangan tunggal menunjukkan 1 bercak. Karakterisasi isolat dengan spektrofotometer UV-Vis menunjukkan adanya absorbansi maksimal pada λ 240 nm dan karakterisasi dengan menggunakan penampak bercak FeCl₃ menunjukkan bercak berwarna hijau kehitaman sehingga isolat tersebut diduga berupa senyawa fenolat.

Kata Kunci: daun mareme (*Glochidion borneense*, (Müll. Arg.) Boerl.), antioksidan, DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil).

A. Pendahuluan

Secara alami antioksidan telah ada dalam tubuh kita, sistem antioksidan tubuh sebagai mekanisme perlindungan terhadap serangan radikal bebas. Senyawa radikal bebas tersebut timbul akibat berbagai proses reaksi kimia kompleks dalam tubuh, berupa hasil sampingan dari proses oksidasi atau pembakaran sel yang berlangsung pada waktu bernapas, metabolisme sel, olahraga yang berlebihan, peradangan atau ketika tubuh terpapar polusi lingkungan, seperti asap kendaraan bermotor, asap rokok, bahan pencemar, dan radiasi matahari. Dampak reaktifitas senyawa radikal bebas bermacam-macam mulai dari kerusakan sel atau jaringan, penyakit autoimun, penyakit degeneratif seperti kanker, aterosklerosis, penyakit jantung koroner (PJK), dan diabetes mellitus (Anies, 2006:109).

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menunda, memperlambat dan mencegah proses oksidasi lipid. Antioksidan adalah zat yang dapat menunda atau menghambat terjadinya reaksi oksidasi dengan mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif sehingga kerusakan sel dapat dihambat (Winarsi, 2007:20).

Masyarakat Indonesia adalah pengguna obat tradisional. Aneka resep untuk aneka penyakit sudah memasyarakat di kalangan penduduk secara turun-temurun. Suku Jawa, Aceh, Batak, Maluku hingga masyarakat pedalaman Kalimantan banyak memiliki obat-obatan spesifik dengan bahan yang mereka peroleh dari sekitar tempat tinggal mereka. Negara kita yang memiliki banyak potensi sumber daya tumbuhan obat belum memanfaatkannya secara maksimal (Muhlisah, 1990:17). Wilayah Indonesia sesungguhnya memiliki keanekaragaman jenis tumbuhan paling kaya di dunia. Dari sekitar 40.000 spesies flora yang tumbuh di dunia, negara kita memiliki 30.000 spesies tumbuhan. Ada sekitar 940 spesies tumbuhan yang dikenal berkhasiat obat. Jumlah tersebut diperkirakan meliputi 90% dari jumlah tumbuhan obat yang beredar di Asia (Muhlisah, 1990:17). Ada jenis lalap-lalapan yang dipercaya memiliki khasiat, baik dalam bentuk buah maupun daun-daunan, salah satunya yaitu daun mareme (Suganda, 2011: 203). Daun mareme diduga dapat berpotensi sebagai antioksidan yang sering digunakan oleh masyarakat sebagai lalapan. Daun mereme tersebar dari India ke Burma (Myanmar), indo-Cina, Cina selatan, Thailand, seluruh wilayah Malesian, Australia utara dan Polynesia, juga ditemukan di daerah tropis Amerika dan Madagaskar (Irwanto, 1998:258).

Ekstraksi merupakan suatu proses penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut menggunakan bantuan pelarut cair. Senyawa aktif yang terdapat dalam berbagai simplisia dapat digolongkan ke dalam golongan minyak atsiri, alkaloid, flavonoid dan lain-lain. Struktur kimia yang berbeda-beda akan mempengaruhi kelarutan serta stabilitas senyawa-senyawa tersebut terhadap pemanasan, udara, cahaya, logam berat, dan derajat keasaman. Dengan diketahuinya senyawa aktif yang dikandung simplisia akan mempermudah pemilihan pelarut dan cara ekstraksi yang tepat (Depkes, 2000:1).

Ekstraksi bertingkat adalah proses ekstraksi suatu bahan dengan menggunakan beberapa jenis pelarut, yaitu setelah ekstraksi pelarut pertama, dilanjutkan dengan menggunakan pelarut lain, dan seterusnya (Moelyono, 1996:36).

Adapun tujuan penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Untuk mengidentifikasi aktivitas antioksidan ekstrak n-heksana, etilasetat dan metanol dari daun mareme secara kualitatif menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)
2. Melakukan isolasi dan karakterisasi senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan dari daun mareme.

B. Landasan Teori

Glochidion borneense tersebar di Semenanjung Malaysia, Sumatra, Jawa dan Borneo. Kegunaan dari daun mareme muda dimakan sebagai sayuran (Irwanto, 1998:258-259).

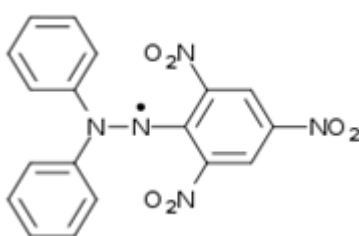


Gambar 1. Daun Mareme (*Glochidion borneense*, (Müll.Arg.) Boerl.).

Deskripsi tanaman mareme adalah sebagai berikut: pohon berukuran sedang, tingginya tidak sampai 30 m, batang lurus atau berliku-liku, terkadang pendek, diameter 50-70 cm, tanpa penopang, permukaan kulit halus sampai mengelupas, memiliki warna coklat tua atau abu kecoklatan sampai hitam, bagian dalam memiliki kulit lembut, dengan warna coklat muda sampai ungu atau kemerahan, dengan eksudat berair. Daun tunggal, letak dalam 2 baris atau tersebar, tangkai pendek, dasar asimetris, stipula biasanya persisten. Bunga berkelamin tunggal, berkelompok kecil dibawah daun, setiap bunga mempunyai 4-6 sepal. Bunga jantan dengan 3-8 benang sari, tangkai sari bersatu dalam tabung. Bunga betina dengan ovarium 3-9 ruang dengan 2 ovul per ruang. Biji berdaging, sarkotesta merah atau orange. Biji dengan perkecambahan *epigeal*, kotiledon yang muncul ke atas dari tanah berbentuk seperti daun, dan hipokotil memanjang (Bacher & Bakhuzen Van Den Brink Jr, 1963:445) dan (Irwanto, 1998:258-259).

Radikal Bebas

Radikal bebas adalah molekul yang memiliki elektron yang tidak berpasangan pada orbital terluarnya dan dapat berdiri sendiri. Salah satu metode yang paling umum digunakan untuk menguji aktivitas antioksidan adalah dengan menggunakan radikal bebas 1,1-difenil-2-picrylhidrazil (DPPH).



Gambar 2. Struktur DPPH (1,1-difenil-2-picrylhidrazil) (Koleva, 2002: 17)

Dampak reaktifitas senyawa radikal bebas bermacam-macam mulai dari kerusakan sel atau jaringan, penyakit autoimun, penyakit degeneratif seperti kanker, aterosklerosis, penyakit jantung koroner (PJK), dan diabetes mellitus (Anies, 2006:109).

Metode DPPH didasarkan pada penurunan nilai absorbansi akibat perubahan warna larutan. Larutan yang mula-mula berwarna ungu akan berubah menjadi warna kuning. Semakin cepat nilai absorbansi turun, menunjukkan semakin potensial antioksidan tersebut dalam mendonorkan hidrogen. Penurunan intensitas warna yang terjadi menunjukkan aktivitas penangkal radikal DPPH oleh senyawa antioksidan (Yen & Duh, 1994).

Antioksidan

Dalam pengertian kimia, senyawa antioksidan adalah senyawa pemberi elektron (*electron donors*). Secara biologis, pengertian antioksidan adalah senyawa yang mampu menangkal atau meredam dampak negatif oksidan dalam tubuh. Antioksidan bekerja dengan cara mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa yang bersifat oksidan sehingga senyawa oksidan tersebut bisa dihambat (Winarsi, 2007:77).

C. Hasil Penelitian dan Pembahasan

Skrining Fitokimia

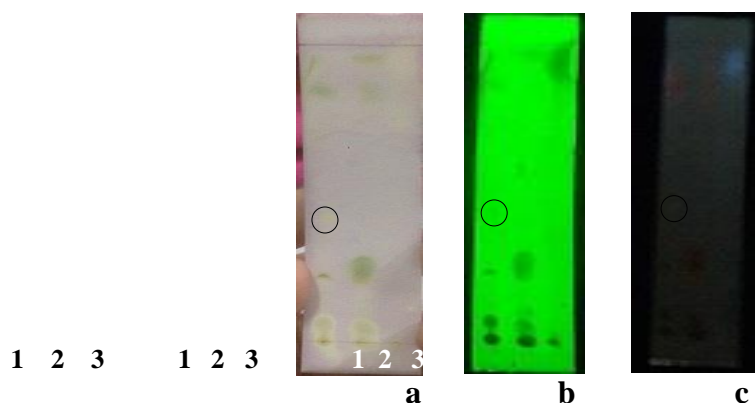
Hasil penapisan fitokimia simplisia segar dan ekstrak daun mareme mengandung golongan senyawa polifenolat, flavonoid, kuinon, tanin, monoterpen dan seskuiterpen. Simplisia segar dan ekstrak daun mareme tidak mengandung golongan senyawa saponin. Dalam hal ini terdapat perbedaan kandungan senyawa dalam daun ataupun ekstrak daun mareme.

Ekstraksi dan Pemekatan Ekstrak

Proses ekstraksi dilakukan menggunakan metode maserasi bertingkat. Ekstraksi dengan metode maserasi bertingkat menggunakan pelarut non polar, semi polar dan polar yang dilakukan dengan cara bergantian dan berturut-turut. Tujuan digunakannya pelarut dengan berbeda kepolaran untuk menarik senyawa sesuai dengan keporalan masing-masing senyawa. Hasil penyarian dipekatkan menggunakan *rotary vacuum evaporator* pada suhu $\pm 40^{\circ}\text{C}$ untuk menguapkan masing-masing pelarut n-heksana, etilasetat dan metanol yang terdapat dalam filtrat. Kemudian ekstrak diuapkan dalam suhu ruang sampai diperoleh ekstrak kental. Proses ekstraksi menggunakan 2 kilogram simplisia segar kemudian menghasilkan ekstrak mareme n-heksan 5,3 gram, ekstrak etil asetat 60 gram dan ekstrak metanol 30,2 gram dengan rendemen ekstrak yang diperoleh dari ekstrak mareme n-heksan 0,26%, ekstrak mareme etil asetat 3,00% dan ekstrak mareme metanol 1,51%.

Pemantauan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Bertingkat Menggunakan Penampak Bercak DPPH

Pemantauan aktivitas antioksidan terhadap ekstrak n-heksana, ekstrak etil asetat dan ekstrak metanol daun mareme dilakukan secara kualitatif menggunakan metode KLT dengan penampak bercak DPPH. Ketiga ekstrak tersebut dielusi dengan fase gerak yang digunakan n-heksana : kloroform (4:6) dan disemprot dengan penampak bercak DPPH. Jika penampak bercak DPPH bereaksi dengan suatu senyawa antioksidan akan menghasilkan warna kuning dengan latar belakang ungu. Ekstak yang terlihat memberikan positif DPPH adalah ekstrak metanol daun mareme dengan Rf 0,49.



Gambar 3. Pola kromatografi lapis tipis ekstrak daun mareme, (1) Ekstrak metanol, (2) Ekstrak etil asetat, (3) Ekstrak n-heksana, (a) Pereaksi semprot DPPH, (b) Penampak bercak sinar UV λ 254 nm, (c) Penampak bercak sinar UV λ 365 nm.

Fraksinasi

Terhadap ekstrak terpilih yaitu ekstrak kental metanol dilakukan fraksinasi menggunakan metode Kromatografi Kolom Klasik. Fase diam yang digunakan adalah silika gel 60 dengan fase gerak n-heksana : kloroform (4:6). Hasil fraksinasi ekstrak metanol menghasilkan 25 vial. Terhadap fraksi 1, 5, 10, 15, 20, 25 dilakukan pemantauan dengan menggunakan metode kromatografi lapis tipis dan penampak bercak DPPH 0,2%. Terdapat senyawa target pada fraksi 5 pada Rf 0,43.

Pemurnian

Terhadap fraksi 5 dilakukan pemurnian dengan KLT-preparatif menggunakan fase gerak n-heksana : kloroform (5:5) dan pereaksi DPPH. Dari hasil pengujian tersebut dapat dilihat bahwa pada fraksi 5 terdapat bercak yang memiliki aktivitas antioksidan terdapat pada Rf 0,74. Akan tetapi bercak tersebut tidak tampak di sinar UV λ 254 nm maupun sinar UV λ 365 nm.

Uji Kemurnian

Hasil isolat yang diperoleh, kemudian diuji kemurnian secara Kromatografi Lapis Tipis pengembangan tunggal menggunakan fase diam silika gel GF254 dengan komposisi fase gerak yang berbeda yaitu n-heksana, etilasetat dan metanol, dan penampak bercak DPPH. Dari hasil uji kemurnian tersebut dapat dilihat bahwa pada ketiga plat menghasilkan 1 bercak, meskipun setelah disemprot DPPH dan hasilnya sedikit samar. Hal ini dapat disebabkan kurang pekatnya larutan isolat yang diujikan.

Karakterisasi Isolat

Isolat yang diperoleh kemudian dikarakterisasi menggunakan spektrofotometri UV-Vis, dilakukan dengan menentukan panjang gelombang maksimum isolat. Hasil karakterisasi isolat dengan spektrofotometri UV-Vis berada pada panjang gelombang 240 nm. Hal ini menunjukkan bahwa isolat tidak memiliki gugus kromofor karena menunjukkan λ maksimalnya kurang dari 250 nm. Hal ini diperkuat dengan adanya hasil pengamatan di bawah sinar UV 254 nm yang tidak menampakkan isolat tersebut.

Selain itu, terhadap isolat tersebut juga dilakukan karakterisasi menggunakan penampak bercak seperti H_2SO_4 , dan $FeCl_3$. Hasil karakterisasi tersebut menunjukkan bahwa penampak bercak H_2SO_4 dan $FeCl_3$ bereaksi positif terhadap senyawa

isolat dengan menunjukkan bercak berwarna hijau kehitaman. Dengan demikian senyawa isolat tersebut memiliki aktivitas antioksidan dan diduga berupa senyawa fenolat.

D. Kesimpulan

Berdasarkan identifikasi aktivitas antioksidan secara kualitatif menggunakan metode KLT, dapat diketahui bahwa ekstrak bertingkat daun mareme memiliki aktivitas antioksidan. Aktivitas lebih baik ditunjukkan oleh ekstrak metanol, dengan terlihat adanya bercak berwarna kuning dengan latar belakang ungu dengan Rf 0,49. Berdasarkan hasil pengujian isolasi dan karakterisasi menggunakan spektrofotometri UV-Vis isolat yang diperoleh memiliki absorbansi maksimal pada panjang gelombang 240 nm sehingga diduga isolat ini tidak memiliki gugus kromofor. Selain itu, terhadap isolat tersebut juga dilakukan karakterisasi menggunakan penampak bercak DPPH dan FeCl₃ menunjukkan bahwa senyawa yang terkandung dalam ekstrak metanol mareme yang memiliki aktivitas antioksidan tersebut diduga senyawa fenolat.

Daftar Pustaka

- Anies. 2006. *Seri Lingkungan dan Penyakit: SUTET*. PT Elex Media Komputindo Kelompok Gramedia, Jakarta.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (2000). *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*, Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan, Jakarta.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (1995). *Material Medika Indonesia*. Jilid VI, Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan, Jakarta.
- Farnsworth, N, R. (1966). Biological and Phytochemical Screening of Plants, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, Vol. 55, No. 3.
- Gritter, R.J., Bobbitt, J.M., Schwarting, A.E. (1991). *Pengantar Kromatografi*, diterjemahkan oleh Padmawinata, K., dan Soediro, I. Institut Teknologi Bandung, Bandung.
- Hostettmann, K., Hostettmann, M., Marston, A. (1995). *Cara Kromatografi Prefaratif*, diterjemahkan oleh Padmawinata, K., Institut Teknologi Bandung, Bandung.
- Koleva, I. K. D. (2002). *Morfologi of Plant Extracts for Antioxidant Activity: A Comparative Study on Three Testing Methode*. *Phytochem Anal.*
- Muhlisah, F. (1990). *Temu-temuan dan Empon-emponan: Budi Daya, Manfaat, dan Khasiatnya*. Kanisius, Yogyakarta.
- Moelyono, M.W. (1996). *Panduan Praktikum Analisis Fitokimia*. Laboratorium Farmakologi Jurusan Farmasi FMIPA. Universitas Padjajaran. Bandung.
- R. R. P. Irwanto. (1998). *Glochidion J.R. Forster & J.G. Forster*. In: Sosef, M. SM. Hong, L. T. And Prawirohatmodjo, S. (eds): *Plant Resources of South. East Asia* 5(3) (Timbertrees: Lesser-Known timbers) (1998). Backhuys Publisher, Leiden, The Netherland, pp: 258-261.
- Suganda, H. (2011). *Wisata Parijs van Java: Sejarah, Peradaban, Seni, Kuliner, dan Berbelanja*. PT Kompas Media Nusantara, Jakarta.
- Winarsi, H. (2007). *Antioksidan Alami & Radikal Bebas*. Kanisius. Yogyakarta.
- World Health Organization. (2011). *Quality Control Methods for Herbal Material*, ISBN 978 92 4 150073 9.
- Yen, G. C. & Duh, P. D. 1933. Antioxidative Properties of methanolic Extracts from Peanut Hulls. *J. Agric. Oil Chem. Soc.*