

Aktivitas Antioksidan dan Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder dari Ekstrak Batang Dahu (*Dracontomelon dao*)

Tarso Rudiana*, Nani Suryani, & Haerul Anwar

Program Studi Kimia, Fakultas Sains, Farmasi dan Kesehatan, Universitas Mathla'ul Anwar, Indonesia.

email: tarso.rudiana@gmail.com

Article history

Received: 10th May, 2021

Received in revised form: 14th June, 2021

Accepted: 23rd June, 2021

DOI:

10.17977/um0260v5i12021p008

Kata-kata kunci:

Antioksidan

Ekstraksi

Kromatografi

Radikal bebas

Abstrak

Dahu (*Dracontomelon dao*) termasuk famili *Anacardiaceae* yang mengandung berbagai senyawa metabolit sekunder yang dimanfaatkan sebagai sumber antioksidan alami. Penelitian ini bertujuan untuk mengekstraksi senyawa metabolit sekunder dari batang tumbuhan *D. dao*, menentukan aktivitas antioksidannya dan menganalisis kandungan senyawa metabolit sekundernya dengan LC-MS/MS. Sampel batang *D. dao* diekstraksi secara bertahap dengan berbagai jenis pelarut seperti methanol, etil asetat, dan *n*-heksana. Setiap ekstrak dianalisis aktivitas antioksidan menggunakan metode 2,2-difenil-1 pikrilhidrazil (DPPH). Ekstrak teraktif dikarakterisasi dengan LC-MS/MS. Ekstrak metanol batang *D. dao* menunjukkan aktivitas antioksidan paling baik dengan nilai IC₅₀ sebesar 30,86 ppm, diikuti oleh ekstrak etil asetat dengan IC₅₀ senilai 200,83 ppm dan ekstrak *n*-heksana dengan nilai IC₅₀ 348 ppm. Hasil identifikasi dengan LC-MS/MS ekstrak metanol mengandung senyawa tributylamina, medroksiprogesteron asetat, dan flavanon.

Abstract

Dahu (Dracontomelon dao) belongs to the Anacardiaceae family which contains various secondary metabolites that can be used as a source of natural antioxidants. The aim of this study was to extract secondary metabolites from stems bark of D. dao, determine their antioxidant activity and analyze the content of secondary metabolites using LC-MS/MS. The stem samples of D. dao were extracted in stages with various types of solvents such as methanol ethyl acetate, and n-hexane. Each extract was analyzed for its antioxidant activity using the 2,2-diphenyl-1 picrylhydrazyl (DPPH) method. The most active extracts were characterized by LC-MS/MS. The stem methanol extract of D. dao showed the best antioxidant activity with an IC₅₀ value of 30.86 ppm, followed by ethyl acetate extract with an IC₅₀ of 200.83 ppm and n-hexane extract with an IC₅₀ value of 348 ppm. Identification results with LC-MS/MS methanol extract containing tributylamine, medroxyprogesterone acetate, and flavanones.

PENDAHULUAN

Radikal bebas merupakan unsur atau seyawa kimia yang memiliki satu elektron tidak berpasangan. Radikal bebas dalam tubuh dapat terbentuk melalui hasil metabolisme dan dapat berasal dari luar tubuh (Parwata, 2016). Radikal bebas dapat menyerang bagian sel seperti lipid, lipoprotein, protein, pati, RNA, dan DNA. (Sayuti & Yenrina, 2015). Radikal bebas diduga menjadi penyebab kerusakan sel memicu munculnya berbagai infeksi seperti keganasan,

penyempitan pembuluh darah (atheosklerosis), masalah paru-paru, ginjal, hati, katarak, reumatik dan diabetes (Khaira, 2010). Pemanfaatan senyawa antioksidan semakin banyak diteiliti baik untuk bidang pengobatan maupun pangan (Mangela dkk., 2016). Antioksidan dapat melindungi tubuh dari serangan radikal bebas (Wahdaningsih dkk., 2011).

Tumbuhan *Dracontomelon dao* (*Anacardiaceae*) tersebar luas di hutan Indonesia yang dapat dimanfaatkan sebagai sumber antioksidan alami. *D. dao* dalam bahasa Melayu

dikenal sebagai sengkung dan di Indonesia dikenal sebagai dahu. Secara etnobotani *D. dao* digunakan sebagai tanaman obat, kulit kayu digunakan untuk penyakit disentri, daun dan bunga juga digunakan dalam pengobatan tradisional (Orwa *et al.*, 2009). Tumbuhan *D. dao* digunakan bahan obat Cina tradisional telah banyak digunakan untuk mengobati berbagai penyakit yang tak tertahankan, misalnya, dekubitus dan bisul kulit (Li *et al.*, 2017). Hasil evaluasi aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol kayu sapwood (bagian lebih luar pada kayu gelondongan sebelum kulit) *D. dao* menunjukkan aktivitas antioksidan yang dengan nilai IC₅₀ sebesar 5 ppm (Jeha *et al.*, 2019). Berdasarkan penelusuran Pustaka *D. dao* belum banyak dimanfaatkan dalam eksplorasi senyawa kimianya dan aktivitas biologisnya.

Minimnya eksplorasi terhadap antioksidan dari tumbuhan *D. dao* maka pada penelitian ini dieksplorasi kajian aktivitas antioksidan ekstrak batang tumbuhan *D. dao*, dan identifikasi kandungan senyawa metabolit sekundernya pada ekstrak teraktif dengan menggunakan LC-MS/MS.

METODE

Alat dan Bahan

Batang *D. dao* diperoleh dari Kabupaten Pandeglang, Provinsi Banten, Indonesia. Bahan yang digunakan adalah pelarut organik *garde* teknis redistilasi seperti *n*-heksana, etil asetat, metanol, 2,2-diphenyl-1 picrylhydrazyl (DPPH) (Sigma Aldric), vitamin C (*Merck*), asetonitril LC-MS grade (*Merck*). Berbagai alat gelas laboratorium, *vacuum rotary evaporator* RE 2010, spektrofotometer UV-Vis (*optima*) dan LC-MS/MS QToF (*waters*).

Persiapan dan Ekstraksi Sampel

Batang *D. dao* sebanyak 8 kg dibersihkan dengan mencucinya pada air mengalir, dirajang kasar dan dijemur di bawah sinar matahari dan ditutup dengan kain yang berwarna gelap, dihaluskan menggunakan alat *grinder*. Sebanyak 1.000 g sampel halus batang *D. dao* diekstraksi dengan direndam pada suhu kamar selama 3x24 jam dalam pelarut *n*-heksana dan setiap 24 jam ekstrak disaring dan diganti dengan pelarut baru. Maserat yang dihasilkan dipekatkan menggunakan vakum evaporator untuk mendapatkan ekstrak *n*-heksana pekat. Maserasi

residu kembali dilakukan dengan menggunakan pelarut etil asetat selama 3x24 jam dan bahan larut diganti secara berkala dengan pelarut etil asetat baru. Hasil maserasi dipekatkan menggunakan vakum evaporator untuk mendapatkan ekstrak pekat etil asetat. Residu di maserasi kembali menggunakan metanol selama 3x24 jam dan bahan yang dapat larut diganti secara berkala dengan metanol baru. Hasil ekstraksi dipekatkan menggunakan vakum evaporator untuk mendapatkan ekstrak pekat metanol.

Uji Antioksidan dengan Teknik DPPH Free Radical Scavenger (Molynoux, 2004)

Setiap ekstrak dibuat dalam berbagai konsentrasi, antara lain 800, 600, 400, 200, dan 100 ppm. Pipet 2 mL tiap sampel ke dalam tabung reaksi. Tambahkan 2 mL 0,002% DPPH ke setiap larutan, homogenkan dan inkubasi di ruangan gelap pada 37°C selama 30 menit. Absorbansi gabungan dievaluasi menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm. Nilai IC₅₀ dihitung berdasarkan persentase hambatan yang dihasilkan. Vitamin C digunakan untuk perbandingan.

Identifikasi Metabolit Sekunder Ekstrak Teraktif Menggunakan LC-MS/MS

Analisis LC-MS/MS mengikuti prosedur Rudiana dkk. (2019) dan dimodifikasi. Sebanyak 1 mg teraktif ekstrak batang *D. dao* dilarutkan dalam 10 µL metanol. Sebanyak 5µL sampel diinjeksikan ke dalam LC-MS/MS dengan laju alir 0,2 mL/menit melalui kolom C-18 (2 x 150 mm). Spesifikasi kolom atau fase diam yang digunakan pada LC-MS/MS yaitu kolom ACQUITY UPLC®BEH C18 dengan kolom dengan fase terbalik (*reverse phase*). Fase gerak yang digunakan adalah campuran pelarut asetonitril : metanol (1:9).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstrak Batang D. dao

Batang *D. dao* halus sebanyak 1.000 g diekstraksi secara bertingkat dengan berbagai pelarut organik sesuai dengan kepolarannya. Ekstraksi bertingkat memberikan keuntungan karena dapat melarutkan senyawa-senyawa secara total dimana senyawa yang terekstrak dikelompokkan berdasarkan sifat kepolarannya (Rudiana dkk., 2018).

Teknik ekstraksi menggunakan metode maserasi. Maserasi cocok digunakan untuk mengekstrak senyawa-senyawa antioksidan yang termolabil (Rahmawati dkk., 2016). Maserasi dilakukan selama 3x24 jam agar senyawa yang terkandung pada sampel dapat terekstrak secara total (Runadi, 2007).

Hasil maserasi batang *D. dao* disajikan pada Tabel 1. Rendemen ekstrak batang *D. dao* dengan menggunakan pelarut metanol diketahui mempunyai rendemen yang paling tinggi yaitu sebesar 2,61 % diikuti ekstrak etil asetat sebesar 0,83 % dan ekstrak *n*-heksana sebesar 0,19 %. Dalam hal ini, bisa dipastikan bahwa ekstrak metanol mempunyai kandungan senyawa metabolit sekunder yang lebih banyak daripada ekstrak *n*-heksana maupun ekstrak etil asetat. Sifat polar dari metanol dapat mengekstrak senyawa-senyawa polar seperti fenolik, alkaloid, dan flavonoid (Rudiana dkk., 2018). Etil asetat termasuk golongan pelarut semipolar yang dapat menarik senyawa golongan flavonoid termetilasi, tannin, flavonoid aglikon, dan beberapa senyawa alkaloid (Sarker *et al.*, 2006). Pada ekstrak *n*-heksana jenis senyawa yang terekstrak diantaranya terpenoid, saponin maupun steroid (Rudiana dkk., 2018).

Tabel 1. Ekstrak batang *D. dao*

Ekstrak	Berat (g)	Rendemen (%)
<i>n</i> -heksana	1,92	0,19
Etil asetat	8,25	0,83
Metanol	26,11	2,61

Aktivitas Antioksidan

Ekstrak pekat batang *D. dao* diuji aktivitas antioksidan dengan teknik DPPH. Senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid dan fenolik akan menyumbangkan protonnya terhadap radikal DPPH sehingga metode DPPH baik digunakan untuk menentukan aktivitas peredaman radikal DPPH (Molyneux, 2004). DPPH merupakan suatu radikal bebas yang stabil dan digunakan untuk pengujian peredaman radikal bebas pada senyawa bahan alam. Data hasil pengukuran antioksidan dapat dilihat pada Tabel 2.

Berdasarkan penelitian Molyneux (2004), suatu senyawa dianggap sebagai antioksidan yang sangat kuat jika nilai IC₅₀ dibawah 50 µg/mL, kuat untuk nilai IC₅₀ sebesar 50-100 µg/mL, sedang jika nilai IC₅₀ sebesar 100-150 µg/mL, dan lemah jika nilai IC₅₀ sebesar µg/mL. Ekstrak metanol

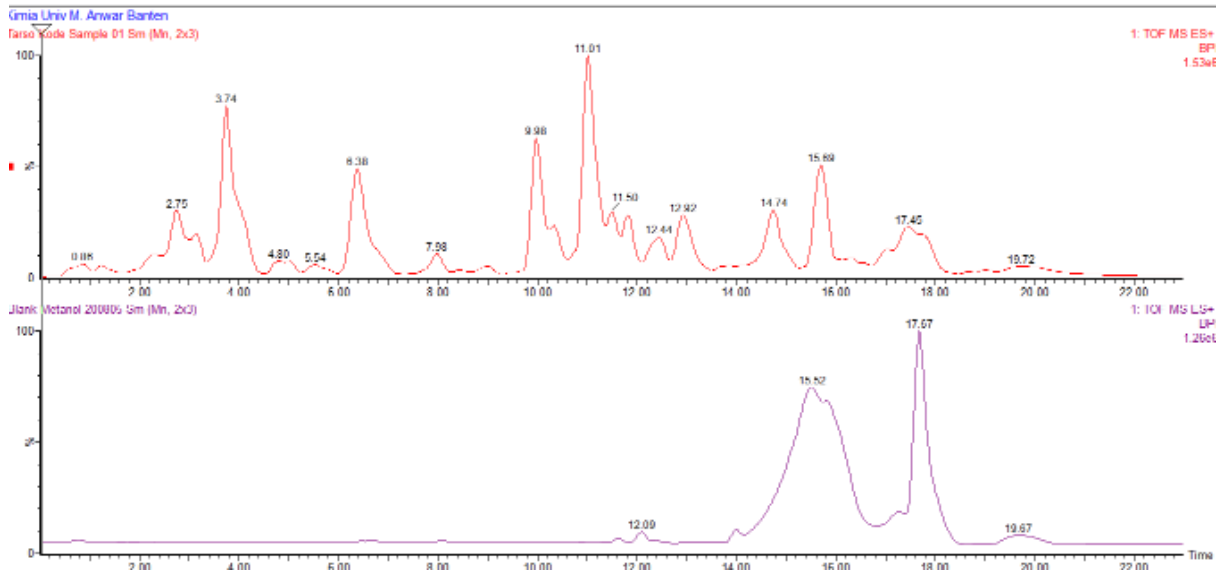
batang *D. dao* memiliki aktivitas tertinggi dengan nilai IC₅₀ sebesar 30,86 ppm, diikuti ekstrak batang *D. dao* pelarut etil asetat dan ekstrak batang *D. dao* pelarut *n*-heksana. Banyaknya kandungan senyawa metabolit sekunder pada ekstrak metanol batang *D. dao* berkorelasi dengan tingginya aktivitas antioksidan. Senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada metanol jauh lebih banyak dibandingkan dengan ekstrak yang lain. Senyawa-senyawa seperti flavonoid, alkaloid, fenolik dapat terekstrak dengan baik di dalam pelarut metanol. Metanol merupakan senyawa polar yang bersifat universal dan unik karena kemampuannya dapat menarik berbagai senyawa organik dengan baik.

Tabel 2. Antivitas antioksidan ekstrak batang *D. dao*

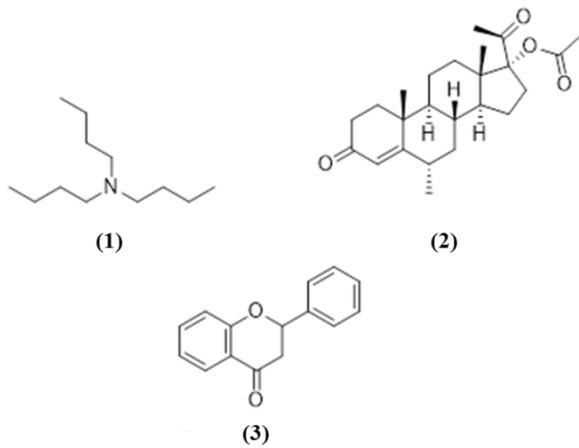
Ekstrak	Nilai IC ₅₀ (ppm)	Aktivitas Antioksidan
<i>n</i> -heksana	348	Sangat lemah
Etil asetat	200,83	Sangat lemah
Metanol	30,86	Sangat kuat

Identifikasi Ekstrak Metanol Menggunakan LC-MS/MS

Ekstrak metanol kemudian diidentifikasi senyawa metabolit sekundernya menggunakan LC-MS/MS. Karakterisasi menggunakan LC-MS/MS ini merupakan salah satu analisis kromatografi modern yang dapat digunakan dalam pengujian kuantitatif dan kualitatif untuk menentukan profil suatu metabolit (Abdullah dkk., 2017). Hasil analisis menggunakan LC-MS/MS didapatkan beberapa puncak kromatogram dengan waktu retensi (Gambar 1). Berdasarkan puncak-puncak tersebut setelah dibandingkan dengan hasil kromatogram blanko metanol (Gambar 1) diperoleh sepuluh puncak pada waktu retensi 0,86; 2,75; 3,74; 4,80; 5,54; 6,38; 7,98; 9,98; 11,01; 11,50 menit. Pada waktu retensi 4,85; 5,54 dan 7,98 menit berdasarkan hasil analisis *online* pada aplikasi *massbank* (<http://www.massbank.jp/>) dan *chemspider* (<http://www.chemspider.com>) berhasil teridentifikasi dengan terlihat kesesuaian yang tinggi dengan data *online* yang tersedia pada *massbank*. Hasil identifikasi LC-MS/MS ekstrak metanol batang *D. dao* menunjukkan adanya senyawa tributilamina (**1**), medroksiprogesteron asetat (**2**) dan flavanon (**3**) dengan struktur yang ditunjukkan pada Gambar 2.



Gambar 1. Kromatogram ekstrak metanol batang *D. dao* (A) dan Blanko (B)



Gambar 2. Struktur kimia hasil identifikasi LC-MS/MS ekstrak metanol batang *D. dao*

Tributylmain banyak digunakan sebagai katalis dan pelarut dalam sintesis organik (Eller *et al.*, 2000). Medroksiprogesteron asetat adalah senyawa steroid. Menurut laporan, senyawa steroid memiliki efek antibakteri, mekanisme kerjanya adalah menghancurkan membran sel dan menyebabkan kebocoran sel, yang menyebabkan penurunan integritas membran sel dan perubahan morfologi membran, yang menyebabkan lisis atau kematian sel (Puspawati dkk., 2020). Kuhl (2005) melaporkan bahwa medroksiprogesteron asetat dapat digunakan sebagai agen pengobatan hormonal dari tipe progestin yang bermanfaat sebagai bagian dari terapi hormon menopause dan kontrol kelahiran.

Flavanon tersebar luas di 42 famili tumbuhan besar, terutama di Asteraceae, Leguminosae dan Rutaceae. Aktivitas farmakologis flavanon adalah

antioksidan dan obat antiinflamasi. Sebagai antioksidan, flavanon dapat menguraikan radikal bebas melalui gugus OH (Brodowska, 2017).

KESIMPULAN

Ekstrak metanol batang *D. dao* memiliki aktivitas antioksidan yang sangat tinggi dengan nilai IC_{50} sebesar 30,86 ppm diikuti oleh ekstrak etil asetat dengan nilai IC_{50} sebesar 200,83 ppm dan ekstrak *n*-heksana dengan nilai IC_{50} sebesar 384 ppm. Ekstrak metanol batang *D. dao* mengandung senyawa tributilamina, medroksiprogesteron asetat dan flavanon.

DAFTAR RUJUKAN

Abdullah A., Nurjanah, Reyhan M. 2017, Karakterisasi dan Identifikasi Senyawa Aktif Ekstrak Pigmen Telur Keong Mas. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 20(2). 286 - 295.

Brodowska, K. M. 2017, Natural flavonoids: classification, potential role, and application of flavonoid analogues. *Eur. J. Biological Res.* 7. 108 – 123.

Eller, K., Henkes, E., Rosbacher, R., & Höke, H. 2000. *Amines, Alifatic*. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co KgaA, Weinheim.

Jeha, F. D. P., Dapar, M. L. G., Aranas, A. T., Mindo, R. A. R., Cabrido, C. K., Torres, M. A. J., Manting, M. E. E., & Demayo, C. G.

- 2019, Assessment Of Antimicrobial, Antioxidant And Cytotoxic Properties Of The Ethanolic Extract From *Dracontomelon dao* (Blanco) Merr. & Rolfe. *Pharmacophore*. 10(2). 18 - 29.
- Khaira, K. 2010, Menangkal Radikal Bebas dengan Anti-Oksidan. *Jurnal Sainstek*, 2(2). 183 – 187.
- Kuhl, H. 2005. Pharmacology of estrogens and progestogens: influence of different routes of administration. *Climacteric*. 8(suppl 1): 3–63.
- Li, Y., Xia, H., Wu, M., Wang, J., Lu, X., Wei, S., Li, K., Wang, L., Wang, R., Zhao, P., Zhao, Y. & Xiao, X. 2017, Evaluation of the Antibacterial Effects of Flavonoid Combination from the Leaves of *Dracontomelon dao* by Microcalorimetry and the Quadratic Rotary Combination Design. *Frontiers in Pharmacology*. 8(70). 1 – 14.
- Mangela, O., Ridhay, A. & Musafira. 2016, Kajian Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Tembelekan (*Lantana camara* L) Berdasarkan Tingkat Kepolaran Pelarut. *Jurnal Reset Kimia Kovalen*. 2(3). 16-23.
- Molyneux, P. 2004, The use of stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*. 26(2). 211 - 219.
- Orwa, C., Mutua, A., Kindt, R., Jamnadass, R., & Anthony, S. 2009, Agroforestry Database: a tree reference and selection guide version 4.0.
- Parwata, A. O. M. I. 2016. Antioksidan. *Bahan Ajar*. Universitas Udayana. Bali
- Puspawati, N. M., Widiari, N. L. P. F., Sukadana, I. M. .2020, Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Tenggulun (*Protium javanicum* Burm. F.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus*. *Jurnal Kimia (Journal Of Chemistry)*. 14(1). 56 – 62.
- Rudiana, T., Fitriyanti & Adawiah. 2018, Aktivitas Antioksidan Dari Batang Gandaria (*Bouea macrophylla* Griff). *Educhemia. Jurnal Kimia dan Pendidikan*. 3(2).195 - 205.
- Rudiana, T., Suryani, N., Indriatmoko, DD., Yusransyah., Amelia, A., Noviany, Hadi, S. 2019, Characterization of Antioxidative Fraction of Plant Stem *Bouea macrophylla* Griff. *Journal of Physics: Conference series*. 1341. 1-8.
- Runadi, 2007, Isolasi dan Identifikasi Alkaloid dari Herba Komfrey (*Symphytum officinale* L.). *Skripsi*. Universitas Padjajajaran, Bandung.
- Sarker, D, Latif, Z, Gray, I, & Alexander, 2006, 'Natural Product Isolation', Humana Press, New Jersey (US).
- Sayuti, K. & Yenrina, R. 2015, Antioksidan Alami Dan Sintetik. AU Press: Padang.
- Wahdaningsih, S., Setyowati, E. P. & Wahyuono, S. 2011, Aktivitas Penangkap Radikal Bebas Dari Batang Pakis (*Alsophila glauca* J. Sm). *Majalah Obat Tradisional*. 16(3). 156 – 160.