

Aktivitas Antioksidan dan Profil Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Kulit Batang Alkesa (*Pouteria campechiana*)

Tarso Rudiana^{1,*}, Dimas Danang Indiatmoko², Dede Rohim²

¹Program Studi Kimia, Fakultas Sains, Farmasi dan Kesehatan, Universitas Mathla'ul Anwar, Jalan Raya Labuan km. 23, Pandeglang Banten - 42273 Indonesia

²Program Studi Farmasi, Fakultas Sains, Farmasi dan Kesehatan, Universitas Mathla'ul Anwar, Jalan Raya Labuan km. 23, Pandeglang Banten - 42273 Indonesia

*Penulis korespondensi: tarso.rudiana@gmail.com

DOI: <https://doi.org/10.24198/cna.v9.n1.33567>

Abstrak: Antioksidan merupakan senyawa yang dapat meredam radikal bebas. Salah satu tanaman yang berpotensi sebagai sumber antioksidan alami adalah Alkesa (*Pouteria campechiana*). Tanaman *P. campechiana* mengandung senyawa fenolik, flavonoid, tanin katekat, monoterpen, dan seskuiterpen. Senyawa flavonoid dan fenolik dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan. Tujuan penelitian ini adalah menguji aktivitas antioksidan dari ekstrak kulit batang *P. campechiana* dan *profiling* senyawa metabolit sekunder pada ekstrak teraktifnya. Kulit batang *P. campechiana* diekstraksi secara bertahap dengan menggunakan pelarut organik dengan berbagai tingkat kepolaran diantaranya *n*-heksana, etil asetat, dan metanol. Masing-masing ekstrak dilakukan pengujian aktivitas antioksidan dengan metode DPPH. Ekstrak metanol memiliki aktivitas antioksidan terbaik dengan nilai IC_{50} sebesar 73,89 ppm, diikuti oleh ekstrak etil asetat dan *n*-heksana dengan nilai IC_{50} masing-masing sebesar 84,03 dan 339,10 ppm. Berdasarkan analisis LCMS/MS Ekstrak metanol mengandung senyawa kafein dan *acaciin*.

Kata kunci: Antioksidan, ekstraksi, LCMS, *Pouteria campechiana*

Abstract: Antioxidants are compounds that can be considered free radicals. One of the plants that may be a source of natural antioxidants is Alkesa (*Pouteria campechiana*). *P. campechiana* plants contain phenolic, flavonoids, catechate tannins, monoterpenes, and sesquiterpenes. Flavonoid and phenolic compounds are reported to have antioxidant activity. The purpose of this study was to examine the antioxidant activity of the bark extract of *P. campechiana* and the *profiling* of secondary metabolites in the most active extract. The bark of *P. campechiana* was extracted in stages using organic solvents with various levels of polarity, including *n*-hexane, ethyl acetate, and methanol. Each extract was tested for antioxidant activity using the DPPH method. Methanol extract had the best antioxidant activity with IC_{50} value of 73.89 ppm, followed by ethyl acetate and *n*-hexane extracts with IC_{50} value of 84.03 and 339.10 ppm, respectively. Based on LCMS/MS analysis Methanol extract contains caffeine and *acaciin* compounds.

Keywords: Antioxidant, extraction, LCMS, *Pouteria campechiana*

PENDAHULUAN

Antioksidan merupakan senyawa reduktan yang mampu menghentikan berkembangnya reaksi oksidasi. Antioksidan dapat bekerja melalui pengikatan dan pencegahan terbentuknya radikal bebas dan menghambat kerusakan sel (Rustiah & Nur 2018). Terbentuknya radikal bebas yang terus-menerus di dalam tubuh dengan jumlah yang besar dapat mengoksidasi lemak, menonaktifkan berbagai enzim dan mengganggu DNA tubuh sampai terjadi perubahan sel yang merupakan awal dari timbulnya penyakit seperti kanker (Handayani dkk. 2013). Radikal bebas yang diproduksi terus menerus selama

siklus metabolisme dan tidak terpenuhinya antioksidan endogen menjadi salah satu faktor penyebab kerusakan berbagai sel dalam tubuh yang dapat memicu berbagai penyakit degeneratif (Rahman dkk. 2014). Eksplorasi sumber antioksidan eksogen dari tumbuhan terus dikembangkan sebagai upaya preventif dalam pencegahan timbulnya penyakit. Salah satu tanaman yang berpotensi sebagai sumber antioksidan alami adalah Alkesa (*Pouteria campechiana*).

P. campechiana adalah tanaman yang berasal dari Meksiko yang menyebar ke Asia Tenggara. Di Meksiko kulit batang *P. campechiana* secara

tradisional dimanfaatkan sebagai obat penurun demam dan obat kulit di Kuba. Biji buahnya secara tradisional dimanfaatkan sebagai obat usus (Morton 1991). Secara turun temurun daun *P. campechiana* digunakan untuk mengobati antiinflamasi, gangguan hati dan antitumor. Menurut Muliawati dkk. (2016) fitokimia *P. campechiana* mengandung senyawa fenolik, flavonoid, tanin katekat, monoterpen, dan seskuiterpen.

Buah *P. campechiana* memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC₅₀ sebesar 2656 ppm (Muliawati dkk. 2016). Buah *P. campechiana* dilaporkan mengandung karotenoid (Costa *et al.* 2010) dan dikenal baik sebagai antioksidan dan hepatoprotektif (Kubola *et al.* 2010). Daun *P. campechiana* memiliki aktivitas biologis terhadap bakteri *Escherchia coli* dengan hambatan minimum pada 0,5% (Pradita dkk. 2016).

Elsayed *et al.* (2016) menyatakan bahwa ekstrak etanol daun dan biji *P. campechiana* mengandung senyawa asam protokatekuat, asam galat, *quercetin*, *myricetin*, *myricetin-3-O-α-L-rhamnoside* dan *myricetin-3-O-β-galactoside*. *Myricetin* memiliki khasiat sebagai antioksidan (Semwal *et al.* 2016). Siswarni dkk. (2017) melaporkan bahwa quercetin merupakan aglikon flavonoid yang memiliki gugus polifenol, sehingga segmen fenoliknya yang sangat reaktif dapat menyeimbangkan senyawa dan bertindak sebagai antioksidan. Penelitian dari bagian lain yaitu kulit batang *P. campechiana* belum banyak diteliti sehingga perlu dilakukan eksplorasi senyawa metabolit sekunder dan peranannya sebagai antioskidan.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Kulit batang *P. campechiana* diperoleh dari daerah Cibulakan Desa Kadubungbang Kecamatan Cimanuk Kabupaten Pandeglang Provinsi Banten Indonesia. Pelarut organik grade teknis terdestilasi (*n*-heksana, etil asetat, dan metanol) *2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl* (DPPH) (*Sigma Aldrich*), vitamin C (*Merck*), asetonitril LC-MS grade (*Merck*). Berbagai alat gelas laboratorium yang umum digunakan untuk proses ekstraksi, *vacum rotary evaporator* RE 2010, spektrofotometer UV-Vis (*optima*) dan LC-MS/MS QToF (*Waters*).

Preparasi dan Ekstraksi Sampel

Kulit batang *P. campechiana* sebanyak 1,7 kg dibersihkan menggunakan air mengalir, dirajang kasar, dan dikeringkan. Simplisia *P. campechiana* yang telah kering dihaluskan. Simplisia halus *P. campechiana* sebanyak 700 g diekstraksi dengan cara maserasi selama 3 × 24 jam dengan menggunakan pelarut *n*-heksana, etil asetat dan metanol secara bergradien. Masing-masing maserat dipekakan dengan menggunakan *rotary evaporator* sehingga didapatkan ekstrak pekat *n*-heksana, etil asetat dan metanol.

Uji Antioksidan dengan Metode DPPH Free Radical Scavenger

Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan teknik DPPH mengikuti prosedur Rudiana dkk. (2018) yang telah dimodifikasi. Masing-masing ekstrak dibuat larutan stok 500 ppm, kemudian dibuat deret konsentrasi (50; 100; 150; 200 dan 250 ppm) dengan metanol sebagai pelarut. Masing-masing larutan sampel dipipet sebanyak 2 mL dan ditambahkan larutan DPPH 0,002% sebanyak 2 mL. Larutan uji dihomogenkan dan diinkubasi pada suhu kamar selama 30 menit dalam ruang gelap. Nilai absorbansi larutan uji diukur pada panjang gelombang 517 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Pengujian dilakukan secara duplo atau sebanyak dua kali. Nilai IC₅₀ ditentukan berdasarkan persen inhibisi dengan persamaan (1).

$$\%Inhibisi = \frac{A_b - A_s}{A_b} \times 100\% \dots (1)$$

Dengan: A_b = absorbansi blanko
 A_s = absorbansi sampel

Nilai IC₅₀ ditentukan dengan cara membuat regresi linear dari data hasil pengujian yang didapatkan. Kontrol positif yang digunakan dalam pengujian antioksidan ini adalah vitamin C.

Identifikasi Metabolit Sekunder Ekstrak Teraktif Menggunakan LC-MS/MS

Penentuan senyawa kimia yang terkandung pada ekstrak metanol *P. campechiana* menggunakan LC-MS/MS berdasarkan prosedur Rudiana *et al.* (2019) yang telah dimodifikasi. Sebanyak 1 mg sampel ekstrak teraktif ditimbang dan dilarutkan dalam 20 µL metanol. Larutan sampel sebanyak 10 µL disuntikkan pada LC-MS/MS melalui kolom C-18 (2 × 150 mm) dengan aliran kecepatan 0,2 mL/menit. Fase gerak yang digunakan adalah asetonitril:metanol dengan perbandingan 9:1.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstrak Kulit Batang *P. campechiana*

Kulit batang *P. campechiana* yang telah dihaluskan dimaserasi secara bertahap menggunakan berbagai pelarut dengan tingkat kepolaran yang berbeda seperti *n*-heksana, etil asetat dan metanol. Penggunaan pelarut yang berbeda-beda bertujuan untuk mengklasifikasikan senyawa-senyawa berdasarkan kepolarannya sehingga maserat dengan pelarut nonpolar akan mengekstrak senyawa nonpolar, senyawa-senyawa semipolar akan terekstrak oleh pelarut semipolar dan senyawa-senyawa polar akan terekstrak oleh pelarut polar. Hal tersebut sejalan dengan penelitian Hati dkk. (2018) yang menyebutkan bahwa ekstraksi bertingkat akan menghasilkan senyawa tertentu yang terekstrak

secara spesifik pada tiap pelarut yang digunakan, sedangkan ekstraksi total menghasilkan senyawa pada ekstrak total yang terekstraksi dengan pelarut tersebut. Ekstraksi bertingkat juga lebih efektif dilakukan karena senyawa metabolit sekunder dapat terambil secara maksimal dalam pelarut yang berbeda kepolarannya. Ekstrak pekat hasil maserasi disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Ekstrak hasil maserasi kulit batang *P. campechiana*

Berat simplisia (g)	Ekstrak	Berat (g)	Rendemen (%)
700	<i>n</i> -heksana	5,4	0,77
	Etil asetat	5,84	0,83
	Metanol	73,19	10,45

Depkes RI (2000) menyatakan bahwa semakin tinggi rendemen, semakin besar pula ekstrak yang dihasilkan. Menurut Supiyanti dkk. (2010) metanol dapat mengekstrak jumlah senyawa kimia yang lebih banyak. Tingginya rendemen ekstrak kulit batang *P. campechiana* dengan pelarut metanol menunjukkan bahwa pada kulit batang *P. campechiana* mengandung banyak senyawa polar seperti flavonoid dan polifenol.

Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Batang *P. campechiana*

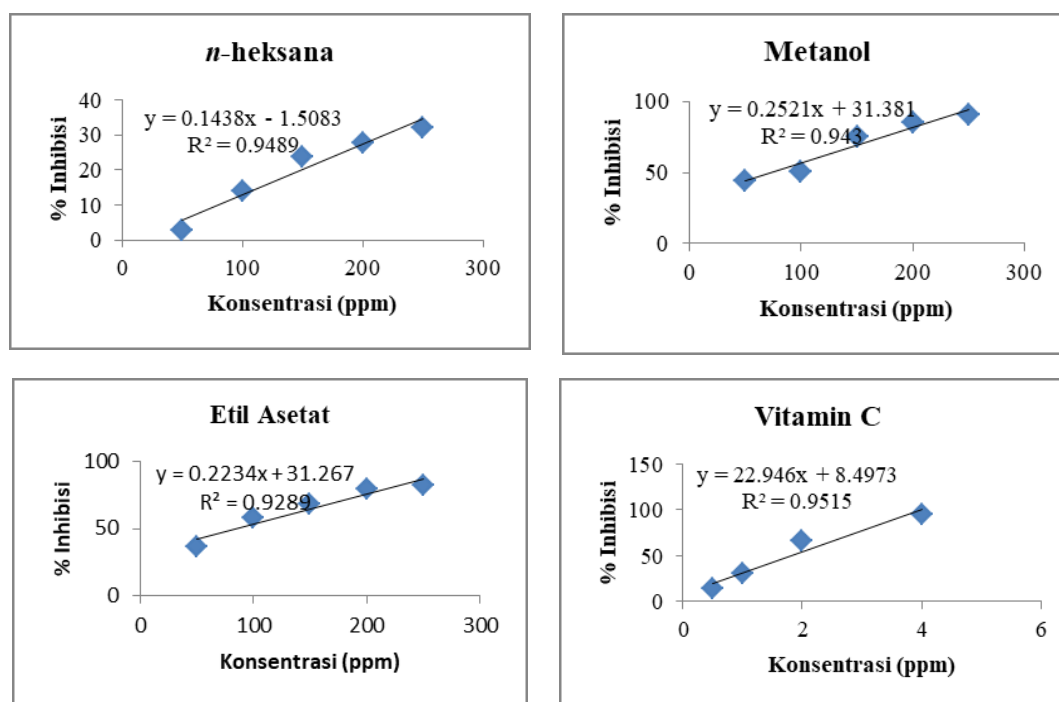
Ekstrak kulit batang *P. campechiana* diuji aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode

DPPH. Tabel 2 menunjukkan hasil pengujian aktivitas antioksidan ekstrak kulit batang *P. campechiana*.

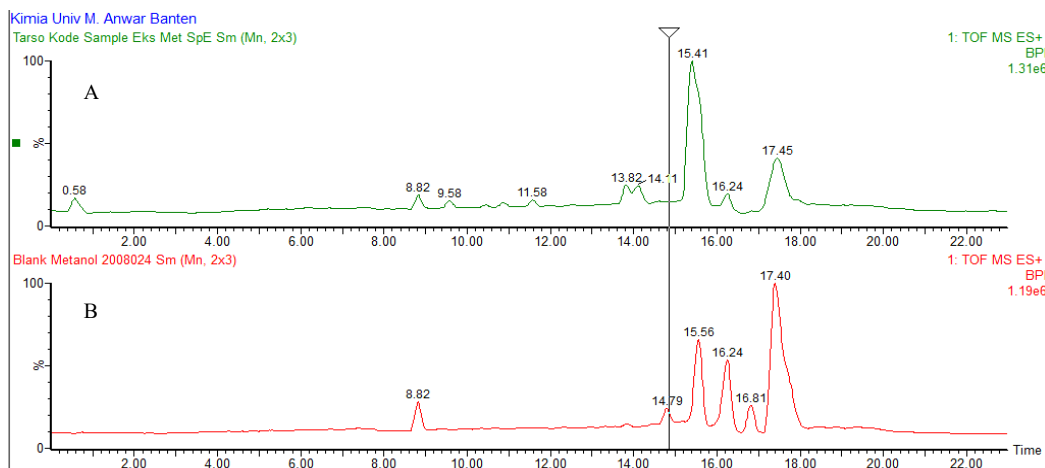
Tabel 2. Data aktivitas antioksidan ekstrak kulit batang *P. campechiana*

Sampel	Nilai IC ₅₀ (ppm)	Keterangan (Molyneux, 2004)
<i>n</i> -heksana	339,10	Tidak aktif
Etil asetat	84,03	Aktif
Metanol	73,89	Aktif
Vitamin C	1,81	Sangat aktif

Aktivitas antioksidan ekstrak *n*-heksana *P. campechiana* memiliki nilai IC₅₀ sebesar 339,10 ppm (Tabel 2) yang dikategorikan tidak memiliki aktivitas antioksidan, hal ini disebabkan karena pelarut *n*-heksana merupakan pelarut yang bersifat nonpolar sedangkan senyawa yang diduga memiliki aktivitas antioksidan adalah senyawa yang bersifat polar. Suratmo (2005) menyatakan bahwa kecilnya aktivitas antioksidan dari ekstrak yang menggunakan pelarut *n*-heksana diduga disebabkan oleh komponen yang terpisah bukan merupakan senyawa antioksidan yang kuat melainkan mengandung komponen nonpolar berupa minyak atsiri, lemak dan minyak. Arifulloh (2013), menyatakan bahwa pelarut *n*-heksan dapat menarik golongan senyawa likopen, triterpenoid dan karotenoid.



Gambar 1. Kurva regresi linier aktivitas antioksidan ekstrak metanol kulit batang *P. campechiana* dan vitamin C



Gambar 2. Kromatogram ekstrak metanol (A) serta blanko metanol (B)

Ekstrak etil asetat menghasilkan nilai IC_{50} sebesar 84,03 ppm dan pada ekstrak metanol memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} sebesar 73,89 ppm dengan kategori kuat (Tabel 2). Aktivitas antioksidan dari ekstrak metanol lebih baik daripada ekstrak *n*-heksana dan etil asetat hal ini diduga berkaitan dengan sifat metanol merupakan pelarut polar sehingga banyak komponen bioaktif yang terekstrak di dalamnya (Huliselan dkk. 2015). Banyaknya senyawa yang terekstrak pada metanol (Tabel 1) juga berpotensi untuk memberikan aktivitas antioksidan yang baik. Pelarut metanol dapat mengekstrak senyawa-senyawa seperti flavonoid, polifenol, tanin, dan alkaloid. Senyawa-senyawa seperti flavonoid, polifenol dan alkaloid dapat berperan dalam peredaman radikal DPPH (Rudiana dkk. 2018)

Identifikasi Ekstrak Teraktif Menggunakan LC-MS/MS

Ekstrak metanol kulit batang *P. campechiana* dianalisis kandungan senyawanya menggunakan LC-MS/MS. Kromatogram ekstrak kulit batang *P. campechiana* teraktif ditunjukkan pada Gambar 2.

Kromatogram ekstrak metanol kulit batang *P. campechiana* (Gambar 2A) menunjukkan adanya sembilan puncak. Sistem *reversed phase* digunakan pada penelitian ini yakni fase diam yang bersifat nonpolar dan fase gerak yang bersifat polar sehingga senyawa yang muncul pada kromatogram di awal waktu retensi adalah senyawa yang bersifat polar dan semakin lama waktu retensi maka akan semakin non polar senyawa yang muncul (Venn 2008). Puncak yang muncul pada kromatogram lebih banyak pada waktu retensi di awal, hal ini menandakan bahwa lebih banyak senyawa polar yang dikandung daripada senyawa non polar. Banyaknya senyawa polar yang terdeteksi pada kromatogram sesuai dengan jenis pelarut yang digunakan pada saat ekstraksi.

Semua puncak diidentifikasi menggunakan perangkat lunak MassLynx versi 4.1 dan identifikasi struktur kimia menggunakan database Massbank dan

Chemspider. Dua puncak pada waktu retensi 11,58 dan 13,82 menit sangat sesuai dengan data dari Masslynx, Massbank, dan Chemspider. Tabel 3 menunjukkan tabulasi data hasil interpretasi LCMS/MS ekstrak metanol kulit batang *P. campechiana*.

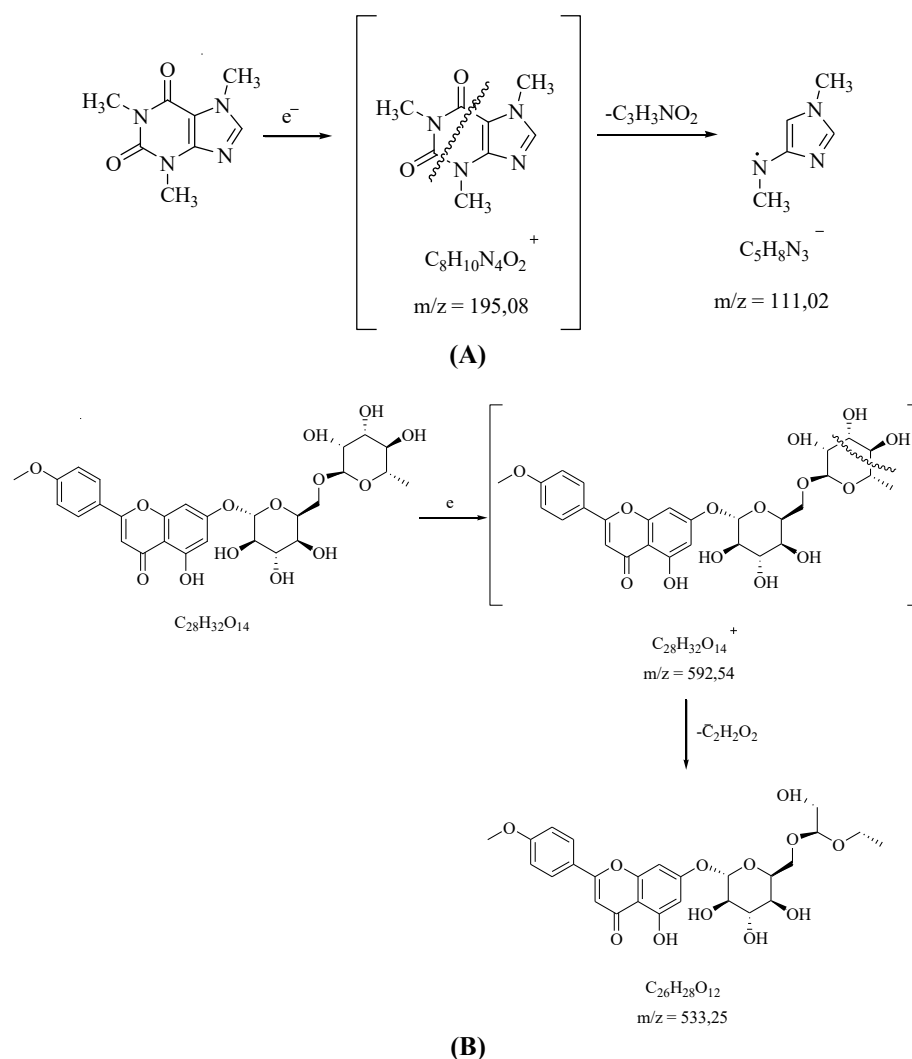
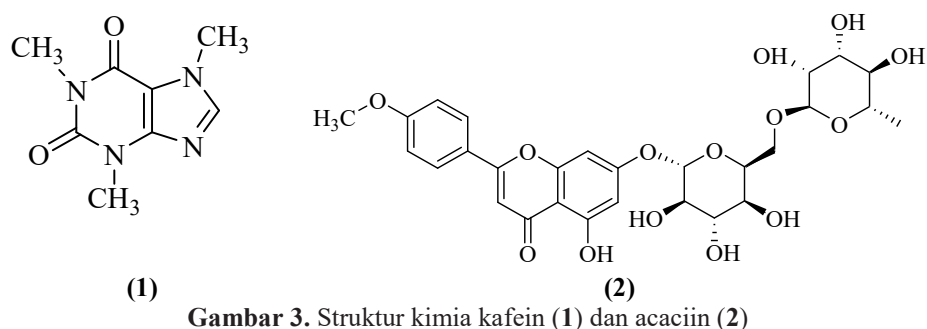
Tabel 3. Tabulasi hasil interpretasi data LCMS/MS dari ekstrak metanol kulit batang *P. campechiana*

Waktu retensi (menit)	Berat molekul (g/mol)	Rumus molekul	Nama senyawa
11,58	195,08	$C_8H_{10}N_4O_2$	kafein (1)
13,82	593,27	$C_{28}H_{32}O_{14}$	acaciin (2)

Struktur kafein dan acaciin ditunjukkan pada Gambar 3. Kafein merupakan sejenis senyawa turunan alkaloid. Kafein memiliki efek farmakologis yang bermanfaat secara klinis, seperti menstimulasi susunan saraf pusat, dengan efek menenangkan rasa lelah, lapar dan kantuk, juga meningkatkan fokus dan memperkuat kontraksi jantung (Imama dkk. 2019). *Acaciin* merupakan senyawa yang termasuk ke dalam golongan flavonoid. Flavonoid adalah zat polifenol yang mempunyai sifat antioksidan. Flavonoid akan memberikan hidrogen atau elektronnya kepada radikal bebas untuk menyeimbangkan senyawa radikal (Dewi dkk. 2018). Pola fragmentasi dari senyawa kafein dan acaciin dapat dilihat pada Gambar 4.

KESIMPULAN

Ekstrak metanol kulit batang *P. campechiana* memiliki aktivitas antioksidan terbaik dengan nilai IC_{50} sebesar 73,89 ppm. Ekstrak metanol kulit batang *P. campechiana* diperkirakan mengandung senyawa kafein dan *acaciin*.



Gambar 4. Pola fragmentasi dari senyawa kafein (A) dan acaciin (B)

DAFTAR PUSTAKA

- Arifulloh. (2013). Ekstraksi Likopen dari Buah Tomat (*Lycopersium esculentum* Mill.) dengan Berbagai Komposisi Pelarut. Skripsi. Universitas Jember. Jember.
- Rahman, N., Bahriul, P. & Diah, A.W.M. (2014). Uji aktivitas antioksidan ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) dengan menggunakan 1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil. *Jurnal Akademika Kimia*. **3(3)**: 143-149.
- Costa, T.D.S.A., Wondracek, D.C., Lopes, R.M., Vieira, R.F. & Ferreira, F.R. (2010). Carotenoids composition of canistel (*Pouteria campechiana* (Kunth) Baehni). *Revista Brasileira de Fruticultura*. **32(3)**: 903-906.
- Depkes RI. (2000). Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat. Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan, Jakarta.
- Dewi, S.R., Argo, B.D. & Ulya, N. (2018). Kandungan flavonoid dan aktivitas antioksidan

- ekstrak *Pleurotus ostreatus*. *Rona Teknik Pertanian*. **11(1)**: 1-10.
- Elsayed, A.M., El-Tanbouly, N.D., Moustafa, S.F., Abdou, R.M. & El Awdan, S.A. (2016). Chemical composition and biological activities of *Pouteria campechiana* (Kunth) Baehni. *Journal of Medicinal Plants Research*. **10(16)**: 209-215.
- Handayani, S., Arianingrum, R. & Haryadi, W. (2013). Aktivitas antioksidan dan antikanker turunan belzalaseton. *Jurnal Penelitian Saintek*. **18(1)**: 71-83.
- Hati, A.K., Multazamudin, M. & Iqbal, M. (2018). Uji aktivitas antibakteri dan kandungan senyawa aktif ekstrak *n*-heksan, etil asetat dan etanol 70% biji melinjo (*Gnetum gnemon*. L) terhadap bakteri *Salmonella thypi* dan *Streptococcus mutans*. *Indonesian Journal of Pharmacy and Natural Product*. **1(1)**: 1-9.
- Huliselan, Y.M., Runtuwene, M.R.J. & Wewengkang, D.S. (2015). Aktivitas antioksidan ekstrak etanol, etil asetat dan *n*-heksan dari daun sesewanua (*Clerodendron squamatum* Vahl.). *Pharmacon*. **4(3)**: 155-163.
- Imama, A.N., Ridho, R. & Safitri, R.E. (2019). Pengaruh penambahan kulit kopi kering terhadap penurunan kadar kafein pada kopi lanang (*Peaberry coffee*). *Jurnal Crystal: Publikasi Penelitian Kimia dan Terapannya*. **1(2)**: 11-22.
- Kubola, J., Siriamornpun, S. & Meeso, N. (2011). Phytochemicals, vitamin C and sugar content of Thai wild fruits. *Food Chemistry*. **126(3)**: 972-981.
- Molyneux, P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*. **26(2)**: 211-219.
- Morton, J.F. (1991). *Pouteria campechiana* (Kunth) Baehni [Internet] Record from Proseabase. Verheij, E.W.M. & Coronel, R.E. (Editors). PROSEA (Plant Resources of South-East Asia) Foundation. Bogor. Indonesia. <http://www.proseanet.org>. Accessed from Internet: 08-Aug-2021
- Muliawati, N., Yuniarni, U. & Choesrina, R. (2016). Uji aktivitas ekstrak etanol daging buah sawo walanda *Pouteria campechiana* (Kunth) Baehni dengan metode DPPH (1,1 Difenil-2-pikrilhidrazil). *Prosiding Farmasi*. **2(2)**: 844-850.
- Pradita, K.H., Yuniarni, U. & Choesrina, R. (2016). Uji aktivitas antibakteri dari ekstrak etanol daun sawo walanda (*Pouteria campechiana* (Kunth) Baehni) terhadap *Escherichia coli*. *Prosiding Farmasi*. **2(2)**: 670-674.
- Rudiana, T., Fitriyanti, F. & Adawiah, A. (2018). Aktivitas antioksidan dari batang gandaria (*Bouea macrophylla* Griff). *EduChemia*. **3(2)**: 195-205.
- Rudiana, T., Suryani, N., Indriatmoko, D.D., Amelia, A. & Hadi, S. (2019). Characterization of antioxidative fraction of plant stem *Bouea macrophylla* Griff. *Journal of Physics: Conference Series*. **1341(7)**: 072008.
- Rustiah, W. & Umrani, N. (2018). Uji aktivitas antioksidan pada ekstrak buah kawista (*Limonia acidissima*) menggunakan spektrofotometer UV-Vis. *Indonesian Journal of Chemical Research*. **6(1)**: 22-25.
- Semwal, D.K., Semwal, R.B., Combrinck, S. & Viljoen, A. (2016). Myricetin: A dietary molecule with diverse biological activities. *Nutrients*. **8(2)**: 90.
- Siswarni, M. Z., Putri, Y.I. & Pramasti, R.R. (2017). Ekstraksi kuersetin dari kulit terong belanda (*Solanum betaceum* Cav) menggunakan pelarut etanol dengan metode maserasi dan sokletasi. *Jurnal Teknik Kimia USU*. **6(1)**: 36-42.
- Supiyanti, W., Wulansari, E.D. & Kusmita, L. (2010). Uji aktivitas antioksidan dan penentuan kandungan antosianin total kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* L). *Majalah Obat Tradisional*. **15(2)**: 64-70.
- Suratmo. (2005). Potensi ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) sebagai antioksidan. Jurusan Kimia. Fakultas MIPA. Universitas Brawijaya. Malang.
- Venn, R.F. (2008). Principles and Practice of Bioanalysis. 2nd ed. CRC Press. New York.