

The antioxidant potential of *Cyrtostachys renda* Blume fruit and root isolate with DPPH method.

Kajian aktivitas antioksidan pada isolat akar dan buah palem merah (*Cyrtostachys renda* Blume) dengan metode DPPH

Syamsurizal¹⁾, Elisma¹⁾, Puspa Dwi Pratiwi¹⁾, Ria Novia¹⁾, Sarah Dianora Sitanggang¹⁾, Amalia Rani¹⁾, Mira Ovita Damayani¹⁾

¹⁾Jurusan Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Jambi, Jambi, Indonesia.

*e-mail author: syamsurizal68@unja.ac.id

ABSTRACT

Free radical reactions were increased in cells, leading to degenerative illnesses. Antioxidant components may inhibit free radical reactions. Exogenous antioxidants are primarily found in red palm (*Cyrtostachys renda* Blume). This study aimed to assess the potency of antioxidant activities of fruit and root *C. renda*, which were extracted in n-hexane, ethyl acetate, dichloromethane, and water. The bioactivity of the fractionate, isolate, and positive control (α -tocopherol) were used in the DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) method. The result showed that the ethyl acetate extract of fruit and roots had the highest antioxidant activity, with an IC₅₀ value of 11.47 ± 0.169 μ g/mL (very strong category) in the roots. In contrast, the IC₅₀ value in the fruit was 10.69 ± 0.084 g/mL. Further evaluating of antioxidant activity in the roots revealed that the IC₅₀ value for isolate A was 28.17 ± 0.232 , while the IC₅₀ value for isolate B was 24.80 ± 0.296 g/mL. The fruit of isolation C had an IC₅₀ value of 14.91 ± 0.247 g/mL, while isolate D had an IC₅₀ value of 25.98 ± 0.133 g/mL. Compared to the antioxidant activity of α -tocopherol, which has an IC₅₀ value of 13.54 ± 0.038 , isolate C is very potent inhibit free radical scavenger. In contrast, the other isolates are two times lower than the positive control.

Keywords: Antioxidant; *Cyrtostachys renda* Blume; isolate; DPPH.

ABSTRAK

Munculnya penyakit degenerative dapat dipicu oleh radikal bebas yang semakin meningkat. Penghambatan reaksi radikal bebas dapat diperoleh dengan adanya senyawa antioksidan. Palem merah adalah sumber antioksidan eksogen yang diperoleh dari bahan alam. Pemanfaatan palem merah sebagai antioksidan karena mengandung senyawa seperti flavonoid. Penelitian ini memiliki tujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan dari akar dan buah palem merah pada *crude* ekstrak, hasil ekstraksi cair-cair (n-heksan, etil asetat, diklorometana, dan air), fraksionat, subfraksionat dan kontrol positif (α -tokoferol) dengan metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) serta menggunakan 5 rangkaian konsentrasi uji (5, 10, 15, 20, 25 ppm) dengan 3 kali replikasi. Aktivitas antioksidan menunjukkan ekstraksi cair-cair etil asetat buah dan akar memiliki aktivitas antioksidan terbaik dibandingkan hasil ekstrak lainnya termasuk kategori sangat kuat dengan nilai IC₅₀ 11,47 μ g/mL pada akar dan 10,69 μ g/mL pada buah palem merah. Antioksidan pada subfraksi C 28,17 μ g/mL dan E 24,80 μ g/mL pada akar, subfraksi K 14,91 μ g/mL dan O 25,98 μ g/mL pada buah palem merah menunjukkan aktivitas antioksidan dalam menangkal radikal bebas yang ditunjukkan dengan nilai IC₅₀ < 50 μ g/mL. Buah dan

akar palem merah memiliki senyawa metabolit yang berpotensi sebagai antioksidan dan memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat dengan nilai $IC_{50} < 50 \mu\text{g/mL}$. Kata kunci: Antioksidan, Pelem Merah, Fraksinasi, DPPH.

Kata kunci: Antioksidan; *Cyrtostachys renda* Blume; isolat; DPPH

PENDAHULUAN

Radikal bebas dapat didefinisikan sebagai fragmen molekuler yang terdiri dari elektron tidak berpasangan pada orbital atom terluar. Jumlah elektron ganjil pada radikal bebas menjadikannya tidak stabil dan sangat reaktif. Karakteristik inilah yang bertanggung jawab atas reaksi berantai radikal bebas. Radikal bebas berupaya untuk berikatan dengan molekul lain, atom, ataupun elektron agar menghasilkan senyawa yang stabil. Molekul lain akan menyumbangkan elektron untuk diterima oleh radikal bebas yang bertindak sebagai zat pengoksidasi atau pereduksi (Windisch et al., 2008).

Radikal bebas diproduksi secara endogen maupun eksogen. Mitokondria menjadi sumber utama spesies oksigen reaktif (ROS) endogen yang diproduksi di tingkat sel. Sumber radikal bebas eksogen meliputi sinar ultraviolet, logam berat, suhu tinggi, pencemaran lingkungan, polusi udara dan air, radiasi, merokok, dan reagen kimia industri. Gaya hidup modern sekarang ini yang terkait dengan makanan olahan cepat saji dan kurangnya olahraga berperan penting dalam menginduksi radikal bebas. Apabila jumlah radikal bebas melampaui kemampuan pertahanan endogen tubuh dalam mengaturnya, maka akan terjadi stres oksidatif. Stres oksidatif dapat merusak secara progresif makromolekul seperti asam nukleat, protein dan lipid. Hal ini menyebabkan kerusakan jaringan dan berdampak pada perkembangan penyakit kronis dan degeneratif termasuk kanker serta penyakit inflamasi, pernapasan, kardiovaskular, neurodegeneratif, dan saluran pencernaan. Oleh karena itu, antioksidan eksogen memainkan peran penting dalam pertahanan tubuh terhadap stres oksidatif (Martemucci et al., 2022).

Antioksidan memiliki kemampuan untuk mencegah dan memperlambat oksidasi makromolekul dengan akan menghambat produksi spesies oksigen reaktif dan menghentikan reaksi berantai dengan menangkal radikal bebas dan menghambat reaksi oksidasi. Enzim antioksidan di seluruh sel tubuh terdiri dari tiga kelas utama enzim antioksidan yaitu katalase, superoksida

dismutases (SOD), dan glutathione peroksidase (GPX), yang semuanya berperan penting dalam menjaga homeostatis dengan mempertahankan tingkat ambang batas ROS di dalam sel. Antioksidan alami mampu memperkuat pertahanan antioksidan endogen dari ROS dan mengembalikan homeostasis tubuh secara optimal dengan menetralkan spesies reaktif (Elsayed et al., 2019).

Asupan antioksidan eksogen bersumber dari antioksidan alami serta antioksidan sintetis. Antioksidan sintetis sebagai suplemen makanan dapat mencegah beberapa kerusakan yang disebabkan oleh ROS dalam kondisi stres oksidatif yang meningkat selama peningkatan paparan oksidan dari lingkungan atau ketika respons stres oksidatif endogen yang melemah. Namun penggunaan antioksidan sintetis setiap hari dalam jangka waktu lama dapat berbahaya bagi kesehatan. Asupan antioksidan sintetis berlebihan dapat mengubah pertahanan antioksidan endogen sel, mengubah tingkat kematian sel, atau menurunkan sintesis antioksidan endogen. Perlu diketahui bahwa penggunaan suplemen antioksidan sintetis bukanlah alternatif dari konsumsi antioksidan alami yang bersumber dari tumbuhan seperti buah dan sayur (Poljsak et al., 2013).

Tumbuhan dari suku Arecaceae atau suku palem-paleman menjadi tumbuhan yang berpotensi sebagai sumber antioksidan alamiah. Palem merah merupakan salah satu spesies palem-paleman di Indonesia yang tersebar di wilayah pulau Sumatera serta pulau Kalimantan yang terkenal dengan warna merah pada tangkai daunnya, buah tua, dan akar mudanya (Heatubun, 2009). Adanya aktivitas antioksidan karena kandungan senyawa antioksidan seperti senyawa fenolik dan flavonoid pada tumbuhan famili Arecaceae.

Senyawa fenolik dan flavonoid terkandung dalam tumbuhan suku palem-paleman yaitu pada bagian akar nipah (*Nypa fruticans* Wurmb) mengandung senyawa flavonoid sebesar $0,05 \pm 0,01\%$ (Oktaria & Marpaung, 2023) serta buah pinang yaki mengandung fenolik total pada bagian biji buah $85,92 \text{ mg/kg}$ dengan aktivitas antioksidan

88,16% dan pada bagian kulit buah mengandung fenolik total 3,16 mg/kg dengan aktivitas antioksidan 54,11% (Ismail et al., 2012).

Berdasarkan latar belakang tersebut menunjukkan bahwa akar dan buah palem merah berpotensi memiliki kandungan senyawa sebagai sumber antioksidan. Pada saat ini masih belum ada laporan terkait kemampuan akar dan buah palem merah sebagai antioksidan. Oleh karena itu, perlunya penelitian lebih lanjut terkait kemampuan antioksidan akar dan buah palem merah apabila senyawa-senyawa yang terkandung dalam ekstrak terpisahkan dalam bentuk fraksionat dan isolat.

METODE PENELITIAN

Alat dan bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah oven, grinder, rotary evaporator, corong pisah, chamber KLT, timbangan analitik, plat tetes, alat destilator, seperangkat alat kromatografi cair vakum, lampu UV 366nm, sonicator, mikropipet, piknometer, dan spektrofotometer UV-Vis.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Akar muda dan buah tua palem merah (*Cyrtostachys renda* Blume.) yang diambil dari daerah Muaro Pijoan Kabupaten Muaro Jambi Provinsi Jambi, metanol teknis, n-heksan destilasi, tannic acid (Sigma Aldrich), etil asetat destilasi, quercetin (Sigma Aldrich), diklorometana destilasi, asam asetat glasial (Merck), aquadest, silica gel 60 H (Merck), kafein (Sigma Aldrich), vitamin E (Merck), saponin (Sigma Aldrich), kolesterol (Sigma Aldrich), DPPH (Sigma Aldrich), DMSO (Merck), asam galat (Sigma Aldrich), silika gel GF254 (Merck), H₂SO₄, silika gel 60 0,063-0,200 mm (Merck), pereaksi dragendorff, pereaksi mayer, pereaksi wagner, HCl, serbuk Mg, NaOH 10%, kloroform, asam asetat anhidrat (Merck), gelatin 1%, FeCl₃ 1%.

Determinasi dan Pembuatan Simplisia

Determinasi sampel akar dan buah palem merah dilakukan di Universitas Padjajaran untuk memastikan sampel yang digunakan dalam penelitian merupakan spesies *Cyrtostachys renda* Blume. Akar dan buah palem merah yang diambil dilakukan sortasi basah, pencucian, perajangan untuk akar, pengeringan dengan kering anginkan selama 72 jam untuk selanjutnya dioven (60°C) selama 1x24 jam, disortasi kering, serta dihaluskan menjadi serbuk simplisia.

Ekstraksi Metode Maserasi

Pembuatan ekstrak akar dan buah palem merah menggunakan perbandingan jumlah sampel dan pelarut 1:10. Sebanyak 500 gram serbuk akar dan buah palem merah dimasukkan kedalam wadah maserator kemudian ditambahkan pelarut metanol 5.000 mL. Waktu maserasi selama 48 jam dengan sesekali dilakukan pengadukan. Maserat kemudian difiltrasi dan sisa residu dilakukan maserasi ulang sebanyak 2 kali. Maserat yang didapatkan di *rotary evaporator* sehingga diperoleh ekstrak kental akar dan buah palem merah.

Ekstraksi Cair-Cair

Ektrak kental metanol akar dan buah palem merah diekstraksi cair-cair dengan beberapa pelarut dengan tingga kepolaran berbeda-beda yaitu n-heksan, etil asetat, diklorometana dan air dalam corong pisah. Sebanyak 30 gram ekstrak metanol kental dilarutkan menggunakan air dan dipartisi dengan perbandingan 1:1. Ekstrak n-heksana, etil asetat, diklorometana, dan air yang didapatkan kemudian dipekatkan menggunakan *rotary evaporator*.

Skirining Fitokimia

Skirining fitokimia berupa uji senyawa alkaloid, fenolik, flavonoid, terpenoid/steroid saponin, serta tanin. Adapun pereaksi yang digunakan yaitu pereaksi wagner, mayer, dan dragendorff untuk uji alkaloid, pereaksi HCl pekat, serbuk Mg, NaOH 10%, dan H₂SO₄ untuk uji flavonoid, pereaksi air panas dan HCl 2 N untuk uji saponin, serta pereaksi FeCl₃ 1% untuk uji tanin (Wila et al., 2018). Pereaksi gelatin 1% dalam NaCl untuk uji tanin (Kartikasari et al., 2022). Pereaksi asam asetat dan asam sulfat (Helmalia et al., 2021) dan pereaksi Liebermann-Burchard dan kloroform untuk uji steroid dan terpenoid (Andhiarto et al., 2019).

Fraksinasi dan Pemisahan Lanjutan

Proses fraksinasi pada ekstrak akar dan buah palem merah dengan aktivitas antioksidan paling potensial melalui kromatografi cair vakum. Silica gel GF254 sebagai fase diam dan eluen yang digunakan sebagai fase gerak telah ditentukan terlebih dahulu dengan menggunakan kromatografi lapis tipis. Eluen dibuat berdasarkan sistem gradien yaitu eluen diklorometan 100%, eluen diklorometan : metanol : air (30:3:1), eluen diklorometan : metanol : air (15:3:1), eluen diklorometan : metanol : air (7:3:1), eluen diklorometan : metanol : air (3:3:1) dan eluen

metanol 100%. Ekstrak yang telah diimpregnasi dielusi dengan eluen dari tingkat kepolaran terendah hingga kepolarannya tertinggi. Fraksionasi-fraksionasi yang diperoleh dievaluasi profil KLT dengan eluen n-heksan:etil asetat (5:1) guna melihat spot noda senyawa dan harga Rf pada UV 366 nm. Fraksi dengan profil KLT yang sama akan digabungkan dan di *rotary evaporator*. Fraksi yang memiliki jumlah spot noda dominan paling sedikit dan terpisah dengan baik kemudian dilanjutkan untuk pemisahan lanjutan.

Pemisahan lanjutan pada fraksionasi akar dan buah palem merah menggunakan metode KCV. Silica gel GF254 sebagai fase diam dan n-Heksan 100%, n-Heksan : etil asetat (10:1), n-Heksan : etil asetat (8:1), n-Heksan : etil asetat (5:1), etil asetat 100% serta metanol 100% sebagai fase gerak. Fraksionasi yang sebelumnya telah diimpregnasi akan dielusi dengan sistem gradien. Eluen n-heksan:etil asetat (5:1) digunakan dalam memantau hasil pemisahan lanjutan melalui KLT guna mengetahui profil KLT pada isolat yang diperoleh.

Uji Antioksidan Metode DPPH

Uji antioksidan pada akar dan buah palem merah dengan metode DPPH merujuk pada penelitian Sibua et al., (2022) yang telah dimodifikasi.

a. Pembuatan Larutan Uji DPPH 0,1 mM

Ditimbang DPPH 2,366 mg DPPH akan dilarutkan dalam DMSO 60 mL. Larutan uji DPPH

akan diletakkan pada tempat gelap terhindar dari sinar cahaya.

b. Pembuatan Larutan Uji Sampel

Sebanyak 5 mg akar dan buah palem merah diukur dan dicampur dengan DMSO sebanyak 5 mL untuk mencapai konsentrasi 1000 ppm. Larutan 1000 ppm tersebut kemudian diencerkan dengan pipet larutan induk 1000 ppm sebanyak 250; 200; 150; 100; dan 50 μ L, dilanjutkan dengan penambahan DMSO sebanyak 4750; 4800; 4850; 4900; dan 4950 μ L, sehingga volume sampel mencapai 5 mL. Setelah itu, diambil 2 mL dari masing-masing konsentrasi dan dicampur dengan DPPH 0,1 mM sebanyak 2 mL, menghasilkan konsentrasi akhir sampel berturut-turut menjadi 25; 20; 15; 10; dan 5 ppm. Proses yang sama juga diterapkan pada pembuatan larutan uji vitamin E sebagai kontrol positif.

c. Pengukuran Absorbansi

Blanko berasal dari 2 mL DPPH 0,1 mM yang telah diberi 2 mL DMSO. Larutan blanko, sampel uji, dan kontrol positif yang telah dipreparasi kemudian diinkubasi. Waktu inkubasi sampel 30 menit pada kondisi gelap di suhu ruang. Pengukuran absorbansi sampel melalui spektrofotometer UV-Vis pada 517 nm dengan tiga kali replikasi.

d. Penentuan persen Inhibisi dan Nilai IC₅₀

Hasil absorbansi pada tiap sampel digunakan dalam menentukan persen inhibisi melalui rumus persamaan yaitu:

$$\text{persen inhibisi} = \frac{\text{absorbansi blanko} - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi blanko}} \times 100\%$$

Nilai persen inhibisi akan dimasukkan ke dalam suatu regresi linier yaitu $y = ax + b$ sehingga akan didapatkan nilai IC₅₀ yang akan menginterpretasikan kemampuan aktivitas antioksidan suatu sampel.

HASIL DAN DISKUSI

Pada penelitian ini, pengujian antioksidan dilakukan pada tumbuhan palem merah yaitu bagian akar dan buah palem merah yang diperoleh dari perumahan warga yang berada di daerah Pijoan, Provinsi Jambi dengan berat akar sebesar 4784 gram dan buah sebesar 3850 gram. Akar yang digunakan adalah akar muda yang berwarna merah kecoklatan yang diambil pada siang hari. Sedangkan buah yang digunakan adalah buah palem merah tua yang memiliki warna merah kehitaman. Sampel yang telah dikumpulkan kemudian dilakukan beberapa

tahapan dalam pengelolaan simplisia yang meliputi sortasi basah, pencucian sampel, perajangan pada sampel akar, pengeringan dan sortasi kering. Pengeringan dilakukan dengan dua tahapan yaitu dengan dikering anginkan selama 2-3 hari dan dioven pada suhu 60°C selama 1x24 jam. Simplisia kering kemudian dihaluskan dan diperoleh berat akar sebesar 1250 gram dan buah sebesar 2000 gram sehingga diperoleh nilai rendemen simplisia akar dan buah palem merah berturut-turut sebesar 26,12% dan 51,94%.

Akar dan buah palem merah diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut metanol. Pemilihan metode maserasi dikarenakan senyawa antioksidan memiliki sensitivitas yang tinggi terhadap suhu tinggi. Prinsip dari maserasi yaitu proses difusi pelarut pada serbuk simplisia yang digunakan. Simplisia dari tumbuhan memiliki

senyawa aktif yang akan didesak keluar karena adanya difusi. Tahapan maserasi dimulai dengan memasukkan serbuk simplisia halus ke dalam botol maserasi berwarna gelap sebanyak 500 gram kemudian dimasukkan 5 liter pelarut metanol ke dalam botol maserasi dan direndam selama 48 jam sambil digojog sesekali. Pelarut mempunyai pengaruh yang besar terhadap proses ekstraksi. Pelarut metanol dipilih karena metanol adalah pelarut universal yang mampu menarik senyawa nonpolar dan polar pada tanaman (Salamah & Widyasari, 2015). Selain itu, metanol dapat menarik senyawa alkaloid, flavonoid, tannin, saponin, terpenoid, dan steroid (Salamah & Widyasari, 2015) (Astarina, N. W. G., Astuti, K. W., Warditiani, 2012). Setelah 48 jam maserat disaring ke dalam wadah menggunakan kertas saring. Selanjutnya maserat tersebut dikentalkan menggunakan rotary evaporator pada suhu 60°C dan didapatkan ekstrak metanol pekat.

Pengukuran rendemen ekstrak metanol akar dan buah palem merah dilakukan dengan mengukur bobot jenis ekstrak terlebih dahulu menggunakan piknometer berukuran 1 mL. Rendemen merupakan perbandingan antara hasil ekstraksi yang didapatkan dengan berat simplisia yang digunakan. Rendemen ekstrak akar dan buah palem merah dikatakan baik karena nilainya >10%. Tingginya rendemen dari ekstrak metanol akar dan buah palem

merah menunjukkan bahwa pelarut metanol mempunyai kemampuan yang lebih baik dalam mengekstraksi senyawa karena senyawa yang diperoleh berdasarkan kesamaan sifat kepolarannya dengan pelarut (Verdiana et al., 2018).

Ekstrak kental metanol akar muda dan buah palem merah tua yang sudah diperoleh selanjutnya proses ekstraksi cair-cair (ECC) dilakukan menggunakan pelarut dengan tingkat polaritas yang berlainan menggunakan corong pisah. Penggunaan metode ini untuk mengelompokkan senyawa-senyawa berdasarkan tingkat desitas pelarut. Penggunaan pelarut berupa n-heksan, etil asetat, dan diklorometana. Penggunaan n-Heksan dan Etil Asetat sebagai pelarut akan membentuk lapisan, pelarut n-Heksan serta Etil Asetat berada diposisi atas sedangkan lapisan air dibagaian bawah. Pada penggunaan pelarut diklorometan menghasilkan lapisan yang berada di bawah dan lapisan air terletak diatas. Hal ini disebabkan adanya perbedaan tingkat densitas pelarut yang digunakan. Ekstraksi cair-cair dihentikan setelah penggojogan lapisan pelarut n-Heksan, etil asetat dan diklorometan yang dipergunakan menghasilkan warna putih atau bening. Didapatkan hasil ekstraksi cair-cair yang selanjutnya dilakukan skrining fitokimia. Adapun hasil rendemen yang diperoleh dari ekstraksi cair-cair tertera dalam Tabel 2.

Tabel 1. Hasil Ekstraksi

Ekstrak	Volume Total (mL)	Bobot Jenis (g/mL)	% Rendemen Ekstrak
Metanol Akar	223 mL	0,9675 g/mL	17,26 %
Metanol Buah	373 mL	0,9925 g/mL	18,82 %

Tabel 2. Nilai Bobot Jenis dan Rendemen Ekstrak Hasil Ekstraksi Cair-Cair Akar dan Buah Palm Merah.

Sampel	Hasil ekstrak	Volume total (mL)	Bobot Jenis (g/mL)	Rendemen %
Buah	n-Heksan	43	0,9196	10,50
	Etil Asetat	66	0,8979	15,74
	Diklorometana	37	1,2370	12,15
	Air	56	1,0094	15,01
Akar	n-Heksan	37	0,6921	11,86
	Etil Asetat	55	0,9498	24,21
	Diklorometana	30	1,2084	16,80
	Air	62	1,006	28,90

Pada ekstrak dan hasil ekstraksi cair-cair kemudian dilakukan uji skrining fitokimia pada akar dan buah palem merah. Golongan senyawa dalam akar dan buah palem merah dapat diketahui dengan

melakukan uji skrining fitokimia. Pada pengujian fitokimia diperoleh hasil tersaji pada tabel 3 dan tabel 4.

Tabel 3. Hasil Skrining Fitokimia Akar Palm Merah

Identifikasi senyawa	Pereaksi	Hasil Pengamatan					
		Ekstrak Metanol	Hasil ECC n-Heksan	Hasil ECC Etil Asetat	Hasil ECC Etil Dikloro metan	Hasil ECC Air	Kontrol Positif
Alkaloid	Wagner	+	-	-	+	+	+
	Mayer	-	+	+	+	-	+
	Dragendorff	+	+	+	-	-	+
Fenolik	FeCl ₃ 1%	+	-	+	+	+	+
Flavonoid	HCl pekat	+	-	+	-	+	+
	serbuk Mg						
	H ₂ SO ₄	+	-	+	+	+	+
Saponin	NaOH 10%	+	-	+	+	+	+
	H ₂ O, HCl 2N	+	-	-	-	+	+
	Larutan Gelatin 1% mengandung NaCl	+	-	+	+	+	+
Terpenoid/ Steroid	FeCl ₃ 10%	+	-	+	+	+	+
	Kloroform,	+/-	-/+	+/-	+/-	-/-	+
	CH ₃ COOH, H ₂ SO ₄ pekat						
	CH ₃ COOH	+/-	-/+	+/-	+/-	-/-	+
	Glisial, H ₂ SO ₄ pekat						

Keterangan : (+) Hasil Positif mengandung senyawa metabolit sekunder
 (-) Hasil Negatif atau tidak mengandung senyawa metabolit sekunder

Hasil uji yang diperoleh menunjukkan ekstrak metanol akar palem merah mempunyai senyawa metabolit berupa alkaloid, tanin, flavonoid, terpenoid, saponin dan fenolik. Ekstrak n-heksan mengandung senyawa alkaloid dan steroid. Hasil dari ekstrak etil asetat mengandung alkaloid, tanin, flavonoid, terpenoid dan fenolik. Pada ekstrak diklorometan memiliki senyawa flavonoid, alkaloid, fenolik, tanin, terpenoid. Pada ekstrak air mengandung flavonoid, terpenoid, fenolik, saponin dan tanin.

Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwasanya ekstrak metanol buah palem merah memiliki senyawa metabolit yaitu fenolik, terpenoid, flavonoid, tanin, dan alkaloid. Senyawa steroid terdapat dalam ekstrak n-heksan. Hasil ekstrak etil asetat memiliki kandungan senyawa alkaloid,

flavonoid, terpenoid, tanin dan fenolik. Pada ekstrak diklorometana menghasilkan senyawa fenolik, tanin, alkaloid, dan steroid. Hasil senyawa ekstrak air mempunyai kandungan alkaloid, terpenoid, fenolik, tanin, flavonoid.

Pada setiap ekstrak akar dan buah palem merah dilakukan uji aktivitas antioksidan dimana ekstrak hasil cair-cair dengan nilai IC₅₀ terbaik dipilih untuk dilanjutkan ke tahap fraksinasi. Uji aktivitas antioksidan pada penelitian ini dilakukan dengan metode DPPH yang dinyatakan dalam nilai IC₅₀. Inhibition Concentration atau IC₅₀ adalah nilai aktivitas antioksidan yang diperlukan dalam menangkal 50% radikal bebas. Alasan menggunakan metode tersebut karena tahapan metodenya sederhana dan membutuhkan sampel dengan jumlah yang sedikit. Pada uji antioksidan

dilakukan mulai dari pembuatan larutan induk sampel dan kontrol positif, pembuatan larutan blanko, pengenceran larutan induk dalam beberapa konsentrasi dan pembuatan larutan uji. Konsentrasi yang digunakan pada pengujian antioksidan yaitu 25, 20, 15, 10, dan 5 ppm Pengujian aktivitas antioksidan menggunakan panjang gelombang maksimum yaitu 517 nm. Alasan menggunakan panjang gelombang maksimum karena hal tersebut

dapat memberikan penyerapan yang optimal pada sampel uji (Rizkayanti et al., 2017). Kontrol positif yang digunakan dalam uji aktivitas antioksidan buah palem merah menggunakan vitamin E (α -tokoferol). Menurut Mubarak et al (2017), nilai IC_{50} pada vitamin E (α -tokoferol) sebesar 7,15 $\mu\text{g/mL}$ yang dikategorikan sebagai antioksidan kuat (Mubarak et al., 2017).

Tabel 4. Hasil Skrining Fitokimia Buah Palembang Merah

Identifikasi senyawa	Preaksi	Hasil Pengamatan					
		Ekstrak Metanol	ECC n-Heksan	ECC Etil Asetat	ECC Dikloro metan	ECC Air	Kontrol Positif
Alkaloid	Wagner	+	-	+	+	+	+
	Mayer	-	-	-	+	-	+
	Dragendorff	+	+	+	+	+	+
Fenolik	FeCl_3	+	-	+	+	+	+
Flavonoid	HCl pekat + serbuk Mg	+	-	+	-	+	+
	H_2SO_4	+	-	+	-	+	+
	NaOH 10%	+	-	+	-	+	+
	H_2O , HCl 2N	-	-	-	-	-	+
Saponin	Gelatin 1% mengandung NaCl	+	-	+	+	+	+
Tanin	FeCl_3	+	-	+	+	+	+
	Kloroform, CH_3COOH , H_2SO_4 pekat	-	+	-	+	-	+
Terpenoid	CH_3COOH Glasial, H_2SO_4 pekat	+	-	+	-	+	+
Seteroid		-	+	-	+	-	+
Terpenoid		+	-	+	-	-	-

Keterangan : (+) Hasil Positif mengandung senyawa metabolit sekunder
 (-) Hasil Negatif atau tidak mengandung senyawa metabolit sekunder

Tabel 5. Hasil Uji Antioksidan pada Ekstrak dan Hasil Ekstraksi Cair-Cair

Ekstrak	Nilai IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$) \pm SD	
	Akar Palembang Merah	Buah Palembang Merah
Crude Extract	12,54 \pm 0,138	11.96 \pm 0.659
n-heksan	26,05 \pm 0,341	25.00 \pm 0,643
Etil Asetat	11,47 \pm 0,169	10.69 \pm 0.084
Diklorometan	25,84 \pm 0,513	19.96 \pm 0,193
Air	15,04 \pm 0,215	15.97 \pm 0,479
Kontrol Positif	13,54 \pm 0,038	13.54 \pm 0,038

Tabel 6. Hasil Uji Antioksidan pada Fraksionat, Subfraksi dan Kontrol Positif

Sampel	Nilai IC ₅₀ (µg/mL) ± SD
Akar Palem Merah	
Fraksionat Pertama	26,59 ± 0,422
Subfraksi C	28,17 ± 0,232
Subfraksi E	24,80 ± 0,296
Buah Palem Merah	
Fraksionat Kedua	28,42 ± 0,185
Subfraksi K	14,91 ± 0,247
Subfraksi O	25,98 ± 0,133
Kontrol Positif	
Vitamin E (α-tokoferol)	13,54 ± 0,038

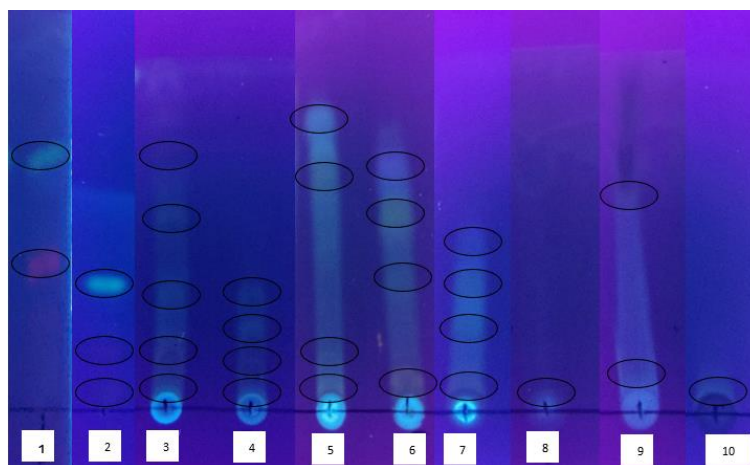
Hasil uji antioksidan pada ekstrak akar dan buah palem merah tersaji lengkap pada tabel 5 dan diperoleh nilai aktivitas antioksidan terbaik yaitu pada ekstrak etil asetat dengan nilai IC₅₀ akar dan buah palem merah berturut-turut sebesar 11,47 µg/mL dan 10.699 µg/mL yang terlihat dengan adanya perubahan warna dari yang bermula violet menjadi kuning. Ekstrak etil asetat kemudian dilakukan fraksinasi hingga diperoleh noda tunggal.

Ekstrak etil asetat hasil ekstraksi cair-cair difraksinasi menggunakan metode kromatografi kolom vakum (KKV) menggunakan kombinasi tiga eluen dengan tingkat kepolaran berbeda yaitu diklorometan, metanol, dan air. Proses fraksinasi dimulai dengan melakukan packing kolom metode kering dengan mengisi kolom dengan silika gel GF254 halus setinggi 6 cm pada kolom besar berdiameter 14 cm. Di atas silika gel halus diletakkan kertas saring yang telah dipotong sesuai ukuran kolom yang bertujuan untuk membatasi antara silika gel halus dan sampel. Sebelum sampel diletakkan, kolom dielusikan terlebih dahulu menggunakan pelarut diklorometan untuk memastikan tidak terjadi cracking pada silika halus yang telah dipadatkan. Setelah dipastikan tidak ada cracking pada kolom, selanjutnya sampel yang telah diimpregnasi diletakkan di atas kertas saring setinggi 1 cm dan diletakkan lagi kertas saring di atasnya. Sampel ekstrak etil asetat akar palem merah sebanyak 23 gram dan buah palem merah sebanyak 59,26 gram diimpregnasi menggunakan silika gel GF254 kasar. Impregnasi bertujuan agar sampel tidak menerobos langsung ke dinding kolom tanpa melewati adsorben sehingga akan menggagalkan proses pemisahan

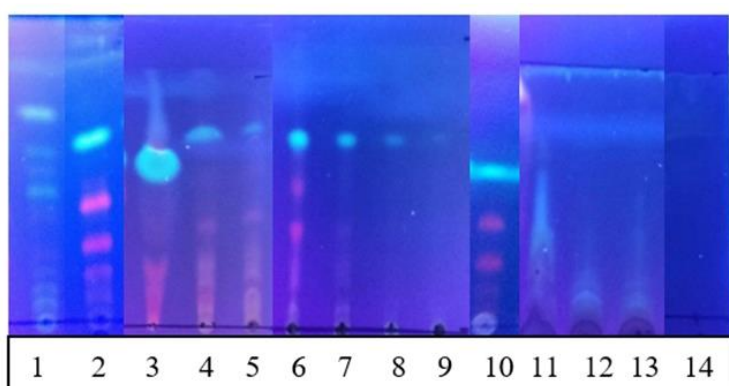
(Ulianti et al., 2017). Selain itu impregnasi juga bertujuan untuk memperluas permukaan silika sehingga sampel yang dielusikan dapat tersebar dengan homogen (Tasmin et al., 2014). Silika yang digunakan dalam kolom pemisahan berukuran lebih halus dibandingkan dengan silika impregnasi karena ukuran partikel yang lebih halus dan kerapatan yang tinggi dapat memberikan hasil pemisahan yang baik dan memudahkan dalam proses pengelusikan (Ulianti et al., 2017).

Fraksinasi dimulai dengan mengelusi pelarut yang sesuai dan terbaik, dimana setelah melakukan pencarian eluen terbaik didapatkan eluen diklorometan:metanol:air adalah eluen terbaik. Pada fraksinasi ekstrak etil asetat akar palem merah pengelusikan dimulai dengan eluen diklorometan, eluen diklorometan:metanol:air (30:3:1), eluen diklorometan:metanol:air (15:3:1), eluen diklorometan:metanol : air (7:3:1), eluen diklorometan:metanol:air (3:3:1) dan eluen metanol. Pada fraksinasi ekstrak etil asetat buah palem merah pengelusikan menggunakan eluen diklorometan. eluen diklorometan:methanol:air (30:3:1), eluen diklorometan:methanol:air (15:3:1), eluen diklorometan:methanol:air (7:3:1) dan eluen methanol.

Setelah dilakukan pengamatan KLT maka dilakukan penggabungan fraksi-fraksi yang ada dimana fraksi dengan noda yang sama digabungkan sehingga didapatkan 10 fraksi pada akar dan 14 fraksi pada buah. Kemudian setiap fraksi diamati menggunakan KLT pada sinar UV 366 nm dan dapat terlihat pada gambar 1 dan 2.



Gambar 1. Kromatogram Fraksionat Gabungan Akar Palem Merah



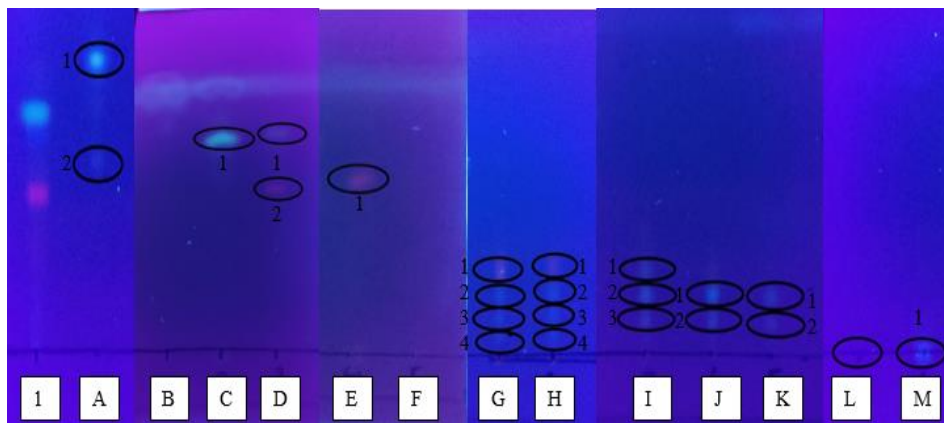
Gambar 2. Kromatogram Fraksionat Gabungan Buah Palem Merah

Fraksi pertama pada akar dan fraksi kedua pada buah difraksinasi kembali untuk memisahkan senyawa yang dikandungnya. Metode fraksinasi yang digunakan adalah metode KKV dengan eluen n-Heksan, etil asetat dan metanol. Proses fraksinasi dimulai dengan melakukan packing kolom dengan memadatkan silika gel GF254 halus ke dalam kolom kemudian diletakkan sampel fraksi ± 1 cm yang sudah diimpregnasi di atasnya. Fraksi pertama seberat 5 gram dan fraksi kedua seberat 1 gram diimpregnasi menggunakan silika gel GF254 kasar.

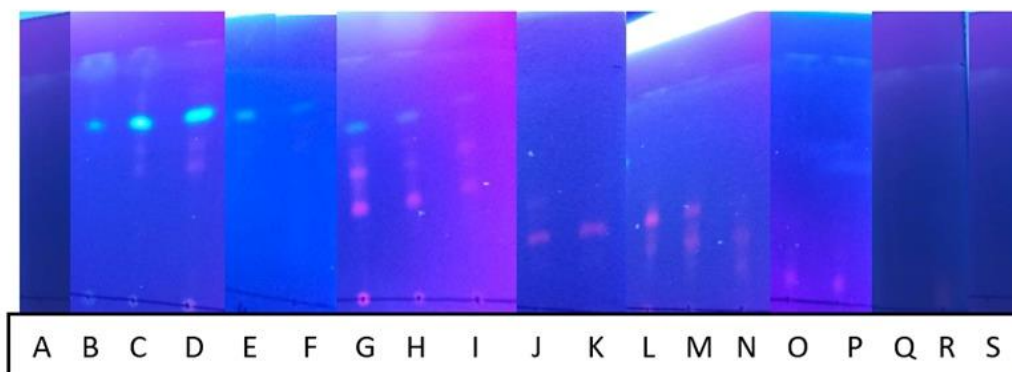
Elusi pertama dengan sampel fraksi pertama akar menggunakan eluen n-Heksan, n-Heksan:etil asetat (10:1), n-Heksan:etil asetat (8:1), etil asetat dan metanol. Subfraksi yang diperoleh sebanyak 13 subfraksi. Fraksi kedua buah dielusi menggunakan eluen n-Heksan, n-Heksan: etil asetat (10:1), n-Heksan:etil asetat (8:1), n-Heksan:etil asetat (5:1), etil asetat dan metanol. Subfraksi yang diperoleh sebanyak 19 subfraksi. Setelah itu dilakukan pengamatan KLT pada masing-masing subfraksi dan dapat terlihat pada gambar 3 dan 4.

Subfraksi C dan E pada akar memiliki satu bercak noda dengan nilai Rf yaitu 0,75 dan 0,65. Subfraksi K dan O pada buah memiliki satu bercak noda dengan nilai Rf yaitu 0,5 dan 0,325. Masing-masing subfraksi yang memiliki satu noda diuji aktivitas antioksidannya.

Fraksionat dan subfraksi yang terpilih kemudian dilakukan uji antioksidan untuk mengetahui kemampuan aktivitas antioksidannya. Fraksionat yang digunakan pada akar palem merah adalah Fraksionat Pertama. Fraksionat Pertama kemudian dilakukan fraksinasi kembali hingga diperoleh 2 subfraksi yaitu subfraksi C dan subfraksi E. Sedangkan pada buah menggunakan Fraksionat kedua dan diperoleh 2 subfraksi yaitu subfraksi K dan subfraksi O. Hasil uji aktivitas antioksidan pada fraksionat, subfraksi dan kontrol positif tersaji pada tabel 6. Hasil uji antioksidan pada fraksionat, subfraksi dan kontrol positif termasuk dalam golongan sangat kuat. Nilai aktivitas antioksidan dikatakan sangat kuat apabila nilai IC_{50} menunjukkan nilai $< 50 \mu\text{g/mL}$ (Supomo et al., 2021).



Gambar 3. Kromatogram Subfraksi Akar Palem Merah



Gambar 4. Kromatogram Subfraksi Buah Palem Merah

KESIMPULAN

Subfraksi dari akar palem merah yaitu subfraksi C dan E memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai sebesar 28,17 $\mu\text{g/mL}$ dan 24,80 $\mu\text{g/mL}$. sedangkan pada subfraksi pada buah palem merah yaitu subfraksi K dan O memiliki nilai IC_{50} berturut-turut yaitu 14,91 $\mu\text{g/mL}$.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Universitas Jambi yang telah mendanai penelitian ini bersumber dari dana DIPA-PNBP Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Skema Penelitian Dosen Terapan Tahun Anggaran 2023

REFERENSI

Astarina, N. W. G., Astuti, K. W., Warditiani, N. K. (2012). Skrining Fitokimia Ekstrak Metanol Rimpang Bangle (*Zingiber purpureum* Roxb.). *Jurnal Farmasi Udayana*, 344(4), 1–7.
Dean, J. R. (2009). Extraction Techniques in Analytical Sciences. In *Extraction*

Techniques in Analytical Sciences. <https://doi.org/10.1002/9780470682494>
Elsayed Azab, A., A Adwas, Almokhtar, Ibrahim Elsayed, A. S., A Adwas, A., Ibrahim Elsayed, Ata Sedik, & Quwaydir, F. A. (2019). Oxidative stress and antioxidant mechanisms in the human body. *Journal of Applied Biotechnology & Bioengineering*, 6(1), 43–47. <https://doi.org/10.15406/jabb.2019.06.00173>
Heatubun, C. D., Baker, W. J., Moge, J. P., Harley, M. M., Tjitrosodirdjo, S. S., & Dransfield, J. (2009). A monograph of *Cyrtostachys* (Arecaceae). *Kew Bulletin*, 64(1), 67–94. <https://doi.org/10.1007/s12225-009-9096-4>
Ismail, J., Runtuwene, M. R. J., & Fatimah, F. (2012). Penentuan Total Fenolik Dan Uji Aktivitas Antioksidan Pada Biji Dan Kulit Buah Pinang Yaki (*Areca vestiaria* Giseke). *Jurnal Ilmiah Sains*, 12(2), 84–88.
Martemucci, G., Costagliola, C., Mariano, M., D'andrea, L., Napolitano, P., & D'Alessandro, A. G. (2022). Free Radical Properties, Source and Targets, Antioxidant Consumption and

- Health. *Oxygen*, 2(2), 48–78.
<https://doi.org/10.3390/oxygen2020006>
- Mubarak, K., Natsir, H., Wahab, A. W., & Satrimafitrah, P. (2017). Analisis Kadar A-Tokoferol (Vitamin E) Dalam Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lam) Dari Daerah Pesisir Dan Pegunungan Serta Potensinya Sebagai Antioksidan [Analysis Of A-Tokopherol (Vitamin E) Extracted From Moringa Leaves (*Moringa Oleifera* Lam) Collected Fro. *Kovalen*, 3(1), 78–88.
- Oktaria, D., & Marpaung, P. M. (2023). Penetapan Kadar Flavonoid Total Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Akar Nipah (*Nypa fruticans* Wurmb) Dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *Lantanida Journal*, 11(1), 1–106.
- Poljsak, B., Šuput, D., & Milisav, I. (2013). Achieving the balance between ROS and antioxidants: When to use the synthetic antioxidants. In *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*.
<https://doi.org/10.1155/2013/956792>
- Rizkayanti, R., Diah, A. W. M., & Jura, M. R. (2017). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Air dan Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa oleifera* LAM). *Jurnal Akademika Kimia*, 6(2), 125.
<https://doi.org/10.22487/j24775185.2017.v6.i2.9244>
- Salamah, N., & Widyasari, E. (2015). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Daun Kelengkeng (*Euphoria longan* (L) steud.) dengan metode penangkapan radikal 2,2'-difenil-1-pikrilhidrazil. *Pharmaciana*, 5(1), 25–34.
<https://doi.org/10.12928/pharmaciana.v5i1.2283>
- Sibua, P., Simbala, H. E. I., Datu, S., Studi, P., Fmipa, F., & Manado, U. (2022). Antioxidant Activity Test Of Pinang Yaki (*Areca vestiaria*) Leaf Extract Using The DPPH (1,1-diphenyl-2-picryldrazyl) Method Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Pinang Yaki (*Areca vestiaria*) Dengan Menggunakan Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). *Pharmacion*, 11(2).
- Supomo, Sa'adah, H., Syamsul, E. S., Kintoko, Witasari, H. A., & Noorcahyati. (2021). *Khasiat Tumbuhan Akar Kuning Berbasis Bukti*. Nas Medika Pustaka.
- Tasmin, N., Erwin, & Kusuma, I. W. (2014). Isolasi, Identifikasi dan Uji Toksisitas Senyawa Flavonoid Fraksi Kloroform dari Daun Terap (*Artocarpus odoratissimus* blanco). *Jurnal Kimia Mulawarman*, 12(1), 45–53.
- Ulianti, L. I. N. A. Y., Upriadin, A. S. E. P. S., Ina, D. A. N. T., & Osahdi, D. E. W. I. R. (2017). Efek Larvasida Hasil Fraksinasi Ekstrak N - Heksana Daun Kirinyuh (*Chromolaena odorata* L.) Terhadap Larva *Aedes Aegypti*. 4(1).
- Verdiana, M., Widarta, I. W. R., & Permana, I. D. G. M. (2018). Pengaruh Jenis Pelarut Pada Ekstraksi Menggunakan Gelombang Ultrasonik Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Buah Lemon (*Citrus limon* (Linn.) burm F.). *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Pangan (ITEPA)*, 7(4), 213.
<https://doi.org/10.24843/itepa.2018.v07.i04.p08>
- Windisch, W., Schedle, K., Plitzner, C., & Kroismayr, A. (2008). Use of phytogetic products as feed additives for swine and poultry. *Journal of Animal Science*, 86(14), E140–E148.
<https://doi.org/10.2527/jas.2007-0459>