

UJI FITOKIMIA DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK BATANG RAMBAI (*Baccaurea motleyana* Mull.Arg.)

PHYTOCHEMICAL AND ANTIOXIDANT ACTIVITY TESTS OF RAMBAI WOOD EXTRACT (*Baccaurea motleyana* Mull.Arg.)

Rike Dominta Aprianti Manik, Erwin*, Alimuddin

Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Mulawarman Jalan Barong Tongkok No 4,
Kampus Gunung Kelua, Samarinda-Indonesia.

*E-mail: winulica@yahoo.co.id

Received: 30 January 2019, Accepted: 20 March 2019

ABSTRACT

Phytochemical and antioxidant activity tests of crude extract and their fractions on stem of rambai (*Baccaurea motleyana* Mull.Arg.) were carried out. This research was conducted to determine the antioxidant properties of crude extract, n-hexane fraction, ethyl acetate fraction, and methanol fraction. The phytochemical test was carried out by a color test while the antioxidant activity test was carried out by the DPPH method. Phytochemical test result showed crude extracts containing alkaloids, steroids, flavonoids and phenolic compounds. The n-hexane fraction contains a group of alkaloids and steroids. Ethyl acetate fraction contains steroid, flavonoid and phenolic compounds. The remaining methanol fraction contains triterpenoid and phenolic compounds. Antioxidant activity test result showed that the crude extract, n-hexane fraction, ethyl acetate fraction and the remaining methanol fraction had IC₅₀ values of 127.1032; 58.2275; 32.3562 and 56.4567 ppm, respectively. Based on the result of the antioxidant test, the stem of rambai (*Baccaurea motleyana* Mull.Arg.) is a plant that has the potential as an antioxidant.

Keywords: *Baccaurea motleyana*, Secondary Metabolite, Antioxidant, DPPH

PENDAHULUAN

Genus *Baccaurea* adalah salah satu genus tanaman yang banyak terdapat di wilayah beriklim tropis seperti Indonesia. Genus ini memiliki spesies hingga 43 jenis yang tersebar di wilayah tropis di sepanjang wilayah Asia Tenggara. Salah satu spesies dari *Baccaurea* yang masih jarang dikenal oleh masyarakat adalah rambai (*Baccaurea motleyana* Mull.Arg.). Rambai tersebar di sepanjang wilayah Thailand, Sumatera, Kalimantan, Jawa, Kepulauan Sunda, Halmahera dan Semenanjung Malaysia. Keberadaan tanaman rambai sangat melimpah dan banyak ditemukan di seluruh wilayah hutan di Kalimantan [1].

Tanaman rambai (*Baccaurea motleyana* Mull.Arg.) banyak digunakan sebagai obat tradisional. Batang bagian dalam dari tanaman ini digunakan sebagai obat peradangan pada mata dan kulitnya digunakan sebagai obat pelindung [2]. Selain itu tanaman ini dipercaya dapat melancarkan menstruasi dan juga membantu penyembuhan penyakit diare. Pohonnya dapat digunakan sebagai penehuh

sedangkan batangnya yang kokoh dapat digunakan sebagai bahan bangunan. Buah rambai juga menjadi salah satu komoditi buah-buahan lokal yang masih dikonsumsi oleh masyarakat [3].

Berdasarkan penelitian-penelitian yang sudah dilakukan, kandungan metabolit sekunder yang ada di dalam genus *Baccaurea* kebanyakan adalah flavonoid, alkaloid, antosianin, tanin, fenolik dan karotenoid [2, 4]. Berdasarkan penelitian Mokhtar, dkk [5], buah rambai memiliki total fenolik pada buah muda, dewasa dan matang sebesar 97,23 mg/100g; 63,90 mg/100g dan 79,57 mg/100g. Selain itu, berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Fitri, dkk [6] menunjukkan adanya kandungan total fenolik pada buah rambai sebesar 53,1 ± 3,2 mg/g berat kering dan total flavonol pada kulit buah rambai sebesar 28,0 ± 0,3 mg/g berat kering. Selain itu, berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Sisillia [3], kulit batang rambai pada ekstrak metanol mengandung saponin, terpenoid dan flavonoid sedangkan pada fraksi air mengandung saponin dan flavonoid.

Tanaman rambai (*Baccaurea motleyana* Mull.Arg.) memiliki potensi aktivitas antioksidan. Dari hasil penelitian diketahui bahwa terdapat kandungan fenolik dan flavonoid di dalam tanaman rambai. Dari hasil penelitian Mokhtar, dkk [5] membuktikan adanya korelasi antara nilai total fenolik dengan nilai antioksidan. Semakin tinggi nilai total fenolik maka nilai antioksidan akan semakin tinggi. Sedangkan flavonoid, merupakan salah satu metabolit yang dapat berfungsi sebagai antioksidan karena dapat menangkap radikal bebas dengan membebaskan atom hidrogen dari gugus hidroksilnya.

Berdasarkan latar belakang di atas maka penelitian ini dilakukan untuk mengeksplorasi lebih dalam tentang tanaman rambai khususnya batang rambai. Dalam bagian tanaman ini seperti buah dan juga kulit buah telah teruji memiliki kandungan yang dapat dimanfaatkan sebagai antioksidan, sehingga pada penelitian ini dilakukan uji pada bagian tumbuhan rambai yang lain yaitu bagian batang untuk mengetahui aktivitas antioksidan yang ada pada bagian batang tersebut. Dalam penelitian ini batang rambai (*Baccaurea motleyana* Mull.Arg.) akan diujikan pada ekstrak kasar dan beberapa fraksi yaitu fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi metanol sisa.

METODOLOGI PENELITIAN

Alat Bahan

Perangkat yang digunakan adalah serangkaian alat destilasi, neraca analitik, pipet tetes, spatula, botol kaca gelap 2500 mL, pipet mikro, serangkaian alat *rotary evaporator*, tabung reaksi, wadah kaca, labu ukur, gelas kimia, corong pisah, batang pengaduk, rak tabung reaksi, hot plate, gelas ukur, botol semprot, spektrofotometer Uv-Vis.

Bahan

Bahan yang digunakan (*Baccaurea motleyana* Mull.Arg.), metanol, *n*-heksana, etil asetat, aquadest, pereaksi Dragendorff, kloroform, serbuk Mg, H₂SO_{4(p)}, HCl_(p), FeCl₃ 1 %, larutan H₂SO_{4(p)}, HNO₃, asam asetat glasial, serum sulfat, DPPH, vitamin C, kertas saring, tisu, kapas, aluminium foil, plastik *wrap* dan kertas label.

Prosedur Penelitian

Persiapan sampel

Batang rambai (*Baccaurea motleyana* Mull.Arg.) yang diperoleh, dibersihkan dari kotoran menggunakan air mengalir. Sampel dihancurkan lalu dikeringkan pada suhu ruang dan tidak terkena sinar matahari langsung.

Ekstraksi

Ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi. Sampel direndam dalam metanol sebanyak dua kali untuk mengambil semua ekstrak yang terdapat pada batang Rambai. Filtrat disaring menggunakan kertas saring untuk memisahkan ekstrak dari residu batang rambai. Ekstrak kasar yang diperoleh dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 40°C dan tekanan 337 mBar sampai diperoleh ekstrak pekat.

Fraksinasi

Fraksinasi ekstrak kasar dilakukan dengan *n*-heksana dan etil asetat berulang kali, sehingga diperoleh 3 fraksi yaitu fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi metanol sisa. Fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi metanol sisa dipekatkan dengan *rotary evaporator* dan disebut sebagai ekstrak fraksi *n*-heksana, ekstrak fraksi etil asetat dan ekstrak fraksi metanol sisa.

Uji fitokimia

Uji alkaloid

Ekstrak batang rambai (*Baccaurea motleyana* Mull.Arg.) ditambahkan 2 tetes H₂SO₄ 2 N dan 3 tetes pereaksi *Dragendorff*. Adanya alkaloid ditunjukkan dengan timbulnya endapan jingga hingga cokelat [7].

Uji triterpenoid dan steroid

Ekstrak batang rambai (*Baccaurea motleyana* Mull.Arg.) ditambahkan beberapa tetes pereaksi *Lieberman-Buchard* (asam asetat glasial + H₂SO₄ pekat). Uji positif triterpenoid memberikan warna merah atau ungu dan uji positif steroid memberikan warna hijau atau biru [7].

Uji fenolik

Ekstrak batang rambai (*Baccaurea motleyana* Mull.Arg.) ditambahkan 3 tetes larutan FeCl₃ 1%. Uji positif fenolik memberikan warna hijau, merah, ungu, biru atau hitam [7].

Uji flavonoid

Ekstrak batang rambai (*Baccaurea motleyana* Mull.Arg.) ditambahkan serbuk Mg dan ditetesi 3 tetes HCl_(p). Diamati perubahan warna yang terjadi. Warna merah sampai jingga diberikan oleh senyawa flavon, warna merah tua diberikan oleh flavonol atau flavanon, warna hijau sampai biru diberikan oleh aglikon atau glikosida [7].

Uji saponin

Ekstrak batang rambai (*Baccaurea motleyana* Mull.Arg.) ditambahkan air panas, dikocok kuat, jika timbul busa ditambahkan 2 tetes HCl pekat. Uji positif

saponin adalah jika timbul busa yang stabil selama 15 menit [7].

Uji antioksidan

Ekstrak kasar dan ekstrak hasil partisi *n*-heksana, etil asetat dan metanol sisa, selanjutnya dilakukan uji antioksidan dengan menggunakan metode peredaman radikal bebas DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil) menggunakan metode penelitian yang telah dilakukan Widyasanti [8] dengan beberapa modifikasi.

Kristal DPPH ditimbang sebanyak 8 mg kemudian dilarutkan dengan 50 mL metanol di dalam labu ukur gelap. Larutan disimpan dalam tempat tertutup dan terlindungi dari cahaya.

Larutan DPPH dipipet sebanyak 1 mL dan ditambahkan dengan 4 mL metanol. Setelah dibiarkan selama 30 menit ditempat gelap serapan larutan diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada kisaran panjang gelombang 400-800 nm untuk mendapatkan panjang gelombang optimum.

Ekstrak kasar dan ekstrak dari masing-masing fraksi di timbang masing-masing sebanyak 5 mg, kemudian dilarutkan dengan metanol sampai volumenya 10 mL. Dengan demikian diperoleh konsentrasi larutan ekstrak sampel pada ekstrak kasar dan masing-masing fraksi yaitu sebesar 500 ppm. Kemudian dilakukan pengenceran dari konsentrasi 500 ppm. Masing-masing fraksi dipipet 400 µL, 800 µL, 1200 µL, 1600 µL dan 2000 µL sehingga didapatkan konsentrasi 20, 40, 60, 80 dan 100 ppm dengan menggunakan mikro pipet dan dilarutkan hingga volume 10 mL. Masing-masing konsentrasi tersebut dibuat dalam 3 kali pengulangan.

Masing-masing ekstrak yaitu ekstrak kasar, ekstrak hasil partisi *n*-heksana, etil asetat dan metanol sisa dengan konsentrasi 20, 40, 60, 80 dan 100 ppm dipipet sebanyak 4 mL dan masing-masing ekstrak sampel tersebut dimasukkan ke dalam tabung reaksi, selanjutnya masing-masing ekstrak sampel ditambahkan dengan 1 mL larutan DPPH, kemudian dihomogenkan dan diinkubasi ditempat gelap selama 30 menit. Selanjutnya diukur nilai absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum.

Vitamin C dengan konsentrasi 2, 4, 6, 8 dan 10 ppm masing-masing dipipet sebanyak 4 mL dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi, selanjutnya masing-masing konsentrasi vitamin C tersebut ditambahkan dengan 1 mL larutan DPPH, kemudian dihomogenkan dan diinkubasi ditempat gelap selama 30 menit. Selanjutnya diukur nilai absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum.

Teknik Analisa Data

Besarnya persentase peredaman radikal bebas DPPH oleh aktivitas antioksidan dari ekstrak yang dinyatakan dalam % inhibisi, dapat diperoleh dengan menggunakan rumus:

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{AB - AS}{AB} \times 100\%$$

AB : Absorbansi kontrol negatif (metanol + DPPH)

AS : Absorbansi sampel

Selanjutnya ditentukan kurva regresi linear antara konsentrasi sampel dan persen penghambatan rata-rata. Penentuan aktivitas antioksidan dilakukan dengan menghitung nilai konsentrasi penghambatan (IC₅₀) yang diperoleh dari persamaan $y = ax + b$ pada kurva regresi linear hubungan konsentrasi (x) dan persentase peredaman (y) [9].

HASIL PENELITIAN

Sampel berupa serbuk kering kayu batang Rambai diekstraksi dengan cara maserasi. Hasil maserasi tersebut diperoleh ekstrak berupa ekstrak berwarna hijau kecoklatan yang kemudian dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kasar. fraksinasi ekstrak kasar dilakukan dengan menggunakan pelarut *n*-heksana kemudian fraksinasi dilanjutkan dengan etil asetat. Adapun fraksi *n*-heksana, etil asetat dan metanol yang diperoleh kemudian dipekatkan hingga diperoleh fraksi pekat dengan bobot masing-masing tertera pada tabel 1.

Tabel 1. Rendemen ekstrak dan fraksi batang rambai (*Baccaurea motleyana* Mull.Arg.)

Ekstrak	Massa (gram)	Rendemen (%)
Ekstrak kasar	20,3324	0,5083
Fraksi <i>n</i> -heksana	2,9935	14,7228
Fraksi etil asetat	5,8482	28,7630
Fraksi metanol sisa	0,7749	3,8112

Skrining fitokimia dilakukan pada ekstrak kasar, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi metanol sisa pada sampel batang rambai (*B. motleyana* Mull.Arg.) untuk mengidentifikasi kandungan metabolit sekunder yang ada di dalam

sampel tersebut secara kualitatif. Dalam penelitian ini dilakukan uji metabolit sekunder alkaloid, saponin, steroid, triterpenoid, fenolik dan flavonoid. Hasil uji fitokimia pada sampel tiap fraksi dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Kandungan metabolit sekunder batang rambai (*Baccaurea motleyana* Mull.Arg.)

Jenis Senyawa	Jenis Ekstrak			
	Ekstrak Kasar	Fraksi <i>n</i> -heksana	Fraksi Etil Asetat	Fraksi Metanol Sisa
Alkaloid	+	+	-	-
Fenolik	+	-	+	+
Steroid	-	-	-	-
Triterpenoid	-	-	-	+
Saponin	+	+	+	-
Flavonoid	+	-	+	-

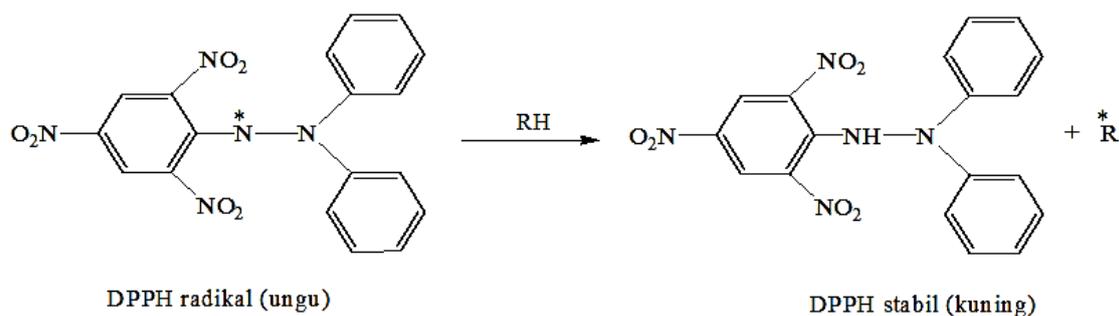
Keterangan:

+ : Terdapat metabolit sekunder

- : Tidak Terdapat metabolit sekunder

Uji antioksidan pada batang rambai (*B. motleyana* Mull. Arg.) dilakukan dengan menggunakan metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil). Metode ini dipilih karena lebih cepat, mudah dan sederhana serta hanya memerlukan sedikit sampel dalam pengerjaannya. Prinsip uji antioksidan dengan metode DPPH ini adalah perubahan intensitas warna ungu pada DPPH yang berbanding lurus dengan konsentrasi DPPH yang tersisa setelah direaksikan dengan senyawa antioksidan. Perubahan intensitas warna ini dapat terjadi karena terjadinya peredaman

radikal bebas DPPH. Dimana elektron bebas pada DPPH akan berikatan dengan satu elektron dari atom hidrogen yang dilepaskan oleh senyawa antioksidan sehingga intensitas warna ungu DPPH berkurang dan berubah warna menjadi kuning. Perubahan warna ini akan menyebabkan terjadinya perubahan absorbansi dari larutan saat diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang optimum DPPH. Reaksi yang terjadi saat peredaman radikal bebas DPPH berlangsung dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Reaksi Peredaman Radikal Bebas DPPH

Dari gambar 1 terlihat bahwa senyawa DPPH merupakan senyawa radikal bebas. Saat direaksikan dengan senyawa yang dapat menyumbangkan elektron maka terjadi peredaman radikal sehingga DPPH radikal yang awalnya berwarna ungu akan berubah warna menjadi DPPH stabil berwarna kuning.

Dari hasil pengukuran aktivitas antioksidan diperoleh data seperti yang tertera pada tabel 3. Hasil perhitungan nilai IC_{50} dapat dilihat bahwa semakin tinggi persen aktivitas antioksidan maka nilai IC_{50}

akan semakin rendah. IC_{50} merupakan parameter untuk menentukan sifat antioksidan atau peredaman radikal bebas suatu senyawa atau ekstrak. Makin kecil nilai IC_{50} berarti makin sedikit ekstrak yang dipakai untuk menstabilkan 50% radikal DPPH.

Dalam tabel 4 terlihat bahwa fraksi etil asetat memiliki nilai IC_{50} terkecil yang menandakan bahwa persen aktivitas antioksidannya paling tinggi dibanding ekstrak yang lain.

Tingkat antioksidan suatu zat dapat diklasifikasikan menjadi beberapa kategori berdasarkan nilai IC_{50} . Menurut Pasilala, dkk [10], tingkat kekuatan antioksidan dinyatakan jika ($IC_{50} \leq 50$ ppm) adalah sangat kuat, (IC_{50} 50-100 ppm) adalah kuat, jika (IC_{50} 105-150 ppm) adalah sedang dan (IC_{50} 151- 200 ppm) adalah lemah. Dari hasil pengukuran diperoleh fraksi etil asetat paling kuat dengan nilai IC_{50} 32,4567 ppm dan ekstrak total sedang dengan nilai IC_{50} 127,1032 ppm. Ekstrak kasar memiliki tingkat antioksidan paling rendah dikarenakan adanya efek antagonis pada masing-masing senyawa

metabolit sekunder sehingga menurunkan aktivitasnya sebagai antioksidan. Ekstrak fraksi *n*-heksana memiliki kemampuan antioksidan yang lebih tinggi karena adanya alkaloid, di mana beberapa jenis alkaloid dapat berperan sebagai antioksidan. Ekstrak fraksi etil asetat memiliki kekuatan antioksidan tertinggi dikarenakan adanya kandungan metabolit sekunder yaitu flavonoid dan fenolik yang dapat berfungsi sebagai antioksidan [11, 12]. Ekstrak fraksi metanol sisa memiliki tingkat antioksidan yang cukup tinggi dikarenakan adanya fenolik yang dapat berperan sebagai antioksidan.

Tabel 3. Hasil uji antioksidan pada ekstrak total dan fraksi-fraksinya

Konsentrasi	Ekstrak Kasar		Fraksi <i>n</i> -Heksana		Fraksi Etil Asetat		Fraksi Metanol	
	Abs	%AA	Abs	%AA	Abs	%AA	Abs	%AA
40	0,283	22,0386	0,319	12,1212	0,167	53,9945	0,248	31,7723
60	0,262	27,7319	0,306	15,70248	0,155	57,2084	0,153	57,8512
80	0,224	38,2002	0,276	24,0588	0,119	67,2176	0,099	72,8191
100	0,219	39,6694	0,247	31,9559	0,095	73,8292	0,057	84,2975
IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	127,1032		58,2275		32,3562		56,4567	

Tabel 4. Persen peredaman radikal bebas

Sampel	Nilai IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	Kategori Daya Antioksidan
Ekstrak total	127,1032	Sedang
Fraksi <i>n</i> -heksana	58,2275	Kuat
Fraksi etil asetat	32,3562	Sangat Kuat
Fraksi metanol sisa	56,4567	Kuat
Vitamin C	3,2942	Sangat Kuat

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh, maka disimpulkan sebagai berikut:

1. Ekstrak kasar batang rambai mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, fenolik dan steroid, fraksi *n*-heksana mengandung senyawa alkaloid dan steroid, fraksi etil asetat mengandung senyawa fenolik, steroid dan flavonoid dan fraksi metanol batang rambai (*Baccaurea motleyana* Mull.Arg.) mengandung senyawa fenolik dan triterpenoid.
2. Nilai *inhibitory concentration* 50% (IC_{50}) pada ekstrak kasar, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat fraksi dan metanol sisa batang rambai masing-masing adalah 127,1032 ; 58,2275 ; 32,6532 dan 56,4567 $\mu\text{g/mL}$. fraksi etil asetat paling aktif dibanding dengan fraksi yang lainnya.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Haegens, R. 2000. Taxonomy, phylogeny, and biogeography of *Baccaurea*, *Distichirhops*, and *Nothobaccaurea* (Euphorbiaceae). *Journal of Plant Taxonomy and Plant Geography*, Supplement 12.
- [2] Gunawan, Chikmawati, T., Sobir and Sulistijorini 2016. Review: Fitokimia genus *Baccaurea* Spp. *Bioeksperimen: Jurnal Penelitian Biologi*, 2(2), pp. 96–110.
- [3] Sisillia, L. 2009. *Aktivitas antibakteri zat ekstraktif kulit kayu Rambai (Baccaurea motleyana Mull. Arg.)*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- [4] Erwin, Widar Ristiyani Pusparohmana, Indah

- Permata Sari, Rita Hairani, and Usman Usman, 2018, Phytochemical and antioxidant activity evaluation of the bark of Tampoi (*Baccaurea macrocarpa*) [version 1; referees: awaiting peer review], 7:(1977), 1-9
- [5] Mokhtar, S. I., Leong, P. C., Ven, L. E., Ain, N. and Aziz, A. 2014. Total phenolic contents, antioxidant activities and organic acids composition of three selected fruit extracts at different maturity stages. *Journal of Tropical Resouces and Sustainable Science*, 2, pp. 40–46.
- [6] Fitri, A. 2015. *Identification of phytochemical and antioxidant activity in peel and seed of tropical fruit from Indonesia*. Bogor: Bogor Agricultural University.
- [7] Harborne, J. 1987. *Metode fitokimia : Penuntun cara modern menganalisis tumbuhan*. Bandung: Penerbit ITB.
- [8] Widyasanti, A., Rohdiana and Novriana. 2016. Aktifitas antioksidan ekstrak the putih (*Camellia sinensis*) dengan Metode DPPH (2,2 Difenil-1-Pikrilhidrazil). *FORTECH*. Bandung: Universitas Padjajaran.
- [9] Cahyani, A. I. 2017. *Uji aktivitas antioksidan dari ekstrak kulit batang kayu Jawa (Lannea coromandelica) dengan Metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrihidrazil)*. Jakarta: UIN Syarif Hidayatullah.
- [10] Pasilala, Fiktor Boni, Daniel dan Chairul Saleh. 2016. Uji toksisitas (*Brine Shrimp Lethality Test*) dan aktivitas antioksidan dari daun Sintrong (*Crassocephalum crepidioides*) dengan metode (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) (DPPH). *Jurnal Kimia Mulawarman*, 14(1), pp. 13-18.
- [11] Erwin. Redda An Nisa, and Daniel. 2015. Phytochemical test, toxicity and antioxidant activity leaves Kerehau (*Callicarpa longifolia* Lam.) with DPPH method, 8 (1), 52-59.
- [12] Erwin. 2015b. Phytochemical analysis and antioxidant activity of the wood ethanolic extract of Sirih Hutan (*Piper aduncum*), *Indonesia Chimica Acta*, 8 (2), 11-16.