

Analysis of secondary metabolite compounds from leaves extract kesambi (*Schleichera oleosa*) and antioxidant activity test

**Boima Situmeang^{1*}; Weny Nuraeni¹; Agus Malik Ibrahim¹
dan Saronom Silaban²**

¹Jurusan Analis Kimia, Sekolah Tinggi Analis Kimia Cilegon, Banten

²Jurusan Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Negeri Medan, Medan

*Korespondensi: boimatumeang@gmail.com

Abstract. Kesambi (*Schleichera oleosa*) is one of plants that have the potential to treat various disease. Kesambi plant or kusum widely spread in Asia such as India, Nepal, Malaysia and Indonesia. In Indonesia, this plant widely available in Java precisely Cilegon and Jember area. This study aimed to analyze the content of secondary metabolites from plants kesambi extract and antioxidant activity test of hexane, ethyl acetate and water fraction. Analysis of secondary metabolites is done with phytochemical and GC-MS test methods. Extraction was done by using maceration and fractionation methods. Antioxidant activity test using DPPH methods. The content of secondary metabolites contained in leaves kesambi (*Schleichera oleosa*) are flavonoids, alkaloids, tannins, phenols, and steroids. Based on IC_{50} values were obtained from three fraction, ethyl acetate fraction had a strong radical inhibition rate than the fraction of water and n-hexane. IC_{50} fraction of ethyl acetate, water, and n-hexane successively are: 206.0851; 272.2891 and 425,1143 ppm respectively.

Keyword: kesambi, *schleichera oleosa*, DPPH, antioxidant

PENDAHULUAN

Radikal bebas merupakan sekelompok bahan kimia baik berupa atom maupun molekul yang memiliki elektron tidak berpasangan pada lapisan luarnya. Radikal bebas juga dijumpai pada lingkungan, beberapa logam (misalnya besi, tembaga), asap rokok, polusi udara, obat, bahan beracun, makanan dalam kemasan, bahan aditif, dan sinar ultraviolet dari matahari maupun radiasi (Arif, 2006). Radikal bebas yang berlebihan dapat mengakibatkan penyakit terutama kanker. Umumnya manusia pada keadaan normal memiliki antioksidan dalam tubuhnya, tetapi pemaparan radikal bebas yang berlebihan tidak mampu ditahan oleh tubuh, maka diperlukan asupan antioksidan dari luar (eksogen) (Rahayu *et al.*, 2015).

Informasi mengenai kandungan tanaman yang memiliki khasiat bagi kesehatan masih belum banyak diketahui. Seperti tanaman kesambi (*Schleichera oleosa*), dari beberapa penelitian sebelumnya disebutkan bahwa tanaman ini memiliki banyak manfaat. Tanaman ini dipercaya sebagai tanaman obat, kulit kayu kesambi dapat digunakan sebagai bahan penyamak kulit, karena menurut hasil penelitian, dalam kulit kesambi ditemukan 6,1-14,3 % zat penyamak (Bachli, 2007). Bahkan dahulu masyarakat Bali dan Madura menggunakan kulit kesambi sebagai obat kulit

yang sangat manjur, terutama terhadap penyakit kudis dan penyakit kulit lainnya. Selain itu, kayu kesambi sangat kuat dan keras. Oleh karena itu dahulu lebih banyak digunakan sebagai bahan pembuatan jangkar untuk perahu kecil. Daun kesambi berkhasiat sebagai obat eksem, obat kudis, obat koreng dan obat radang telinga. Buah dari tanaman kesambi banyak mengandung vitamin C yang baik sebagai antioksidan (Suita, 2012). Berdasarkan penelitian sebelumnya terhadap buah kesambi (*Schleichera oleosa*) dari tiga ekstrak yakni ekstrak n- heksan, etil asetat dan air memberikan nilai aktivitas antioksidan dengan persentase berturut turut 60,91, 43,53 dan 34,94 % (Thatavong, 2015).

Penelitian ini dilakukan untuk menguji kandungan senyawa metabolit sekunder dan uji aktivitas antioksidan dalam daun kesambi dengan menggunakan tiga fraksi yang sama pada penelitian Thatavong (2015). Penelitian ini juga diharapkan dapat memberikan pengetahuan mengenai antioksidan yang lebih luas, dapat menambah wawasan dan informasi yang baru mengenai senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam daun kesambi. Daun kesambi diekstraksi menggunakan metode maserasi. Ekstrak yang dihasilkan dilakukan uji fitokimia senyawa metabolit sekunder dan uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) dengan

pengukuran absorbansi larutan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 515 nm.

METODE

Bahan dan alat

Bahan dalam penelitian ini diantaranya: daun kesambi (*Schleichera oleosa*), Metanol 96%, *n*-Heksan, etil asetat, aquabidest, HCl pekat, serbuk Mg, NaOH 10%, FeCl₃ 10%, DPPH, Amoniak, pereaksi Dragendorff, H₂SO₄ 2 N, H₂SO₄ pekat, CH₃COOH, Kloroform, HCl 2 N, air panas. Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu, spektrofotometer UV-Vis, oven, alat gelas, penangas, peralatan maserasi, timbangan analitik, evaporator, tabung reaksi, incubator, dan GC-MS.

Preparasi sampel

Sampel yang digunakan yaitu daun kesambi (*Schleichera oleosa*) sebanyak 4500 g. Sampel dikeringkan dengan cara ditempatkan dalam ruangan pada suhu 19°C - 30°C selama ± 7 hari. Kemudian dihaluskan sampai didapatkan simplisia kesambi (*Schleichera oleosa*).

Ekstraksi dan fraksinasi

Serbuk halus (simplisia) yang telah didapatkan sebanyak 1327 g diekstraksi dengan cara maserasi menggunakan 2,5 L metanol 96% selama 2 x 48 jam dengan dilakukan pengadukan, lalu disaring dengan kertas saring (Ajileye *et al.*, 2015). Filtrat yang dihasilkan sebanyak ± 3,5 L dievaporasi dan diuapkan pada suhu 50°C sampai diperoleh ekstrak kering metanol daun kesambi (Trisharyanti *et al.*, 2011). Ekstrak kering daun kesambi yang dihasilkan diuji fitokimia senyawa metabolit sekunder, kemudian dipartisi menggunakan *n*-heksan : air (1 : 1) dan etil asetat. Fraksi *n*- Heksan, etil asetat dan air yang dihasilkan diuji aktivitas antioksidannya.

Skrining fitokimia senyawa metabolit sekunder

Uji fitokimia senyawa metabolit sekunder dilakukan pada ekstrak kering daun kesambi.

Alkaloid

Sampel sebanyak ± 2 mL dipipet dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Sampel ditambahkan 5 mL kloroform dan amoniak, kemudian dipisahkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan pereaksi Dragendorff.

B.Situmeang dkk.

Endapan kemerahan yang terbentuk menunjukkan positif mengandung alkaloid (Marlinda *et al.*, 2012).

Flavonoid

Uji Wilstatter: (1) Ekstrak dipipet ± 1 mL dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Ekstrak ditambahkan serbuk magnesium dan 2-4 tetes HCl pekat, kemudian campuran dikocok. Warna jingga yang terbentuk menunjukkan adanya flavonoid golongan flavonol dan flavanon. (2) Ekstrak sebanyak 1 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan dengan H₂SO₄ 2N beberapa tetes, kemudian kocok kuat. Warna mencolok yang terbentuk seperti merah, kuning, atau coklat menunjukkan adanya flavonoid. (3) Ekstrak sebanyak 1 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan larutan NaOH 10% beberapa tetes. Perubahan warna yang terjadi menunjukkan adanya flavonoid (Rahayu *et al.*, 2015).

Terpenoid & Steroid

Ekstrak sebanyak 2 mL ditambahkan 5 mL larutan kloroform: air (1 : 1) dan dikocok kuat. Hasil ekstrak kloroform dipisahkan dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 10 tetes asam asetat anhidrat dan 3 tetes asam sulfat pekat. Jika mengalami perubahan warna merah atau coklat menunjukkan adanya terpenoid (triterpenoid), sedangkan perubahan warna menjadi biru, ungu atau hijau menunjukkan adanya steroid.

Uji Saponin

Ekstrak sebanyak ± 2 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan diekstraksi dengan air panas, dikocok kuat, kemudian ditambahkan HCl 2 N dan dikocok kuat kembali. Saponin ditunjukkan jika terbentuk buih yang tidak hilang setelah didiamkan dalam waktu 10 menit (Agustina *et al.*, 2014).

Uji Fenolik

Ekstrak sebanyak 1 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan FeCl₃ 5% sebanyak 2-3 tetes. Senyawa fenol ditunjukkan jika terjadi perubahan warna biru kehitaman.

Uji Tannin

Ekstrak sebanyak 1 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 1-2

tetes FeCl₃ 1%. Senyawa tanin ditunjukkan jika terjadi perubahan warna hijau kehitaman, ungu, biru, atau hitam yang kuat (Marlinda *et al.*, 2013).

Uji aktivitas antioksidan

Pembuatan Larutan DPPH ditimbang DPPH kristal untuk dilarutkan dalam etanol tepat pada konsentrasi 0,004 % untuk segera digunakan dan dijaga temperature rendah terlindung cahaya. Sebanyak 1,2 ml sampel ditambah 0,3 ml larutan DPPH 0,5 mM dalam methanol sehingga volume total campuran 1,5 ml dan campuran dikocok kuat. Setelah didiamkan pada temperature kamar selama 30 menit, sisa DPPH ditentukan secara spektrofotometri pada panjang gelombang 515 nm (Srinivas & Baboo, 2013). Pengujian ini juga dilakukan pengukuran terhadap blanko (larutan DPPH yang tidak mengandung bahan uji). Aktivitas penangkap radikal DPPH (%) dihitung dengan rumus berikut.

$$\text{Aktivitas} = \frac{A_{sp} - A_{bl}}{A_{bl}} \times 100\%$$

Dimana A_{sp} adalah serapan larutan sampel dan Abl adalah serapan larutan blanko

Data aktivitas antioksidan penangkap radikal DPPH (%) dianalisis dan masing-masing dihitung nilai IC₅₀ melalui analisis probit. IC₅₀ adalah konsentrasi yang mampu menghambat 50% DPPH. Pengujian dilakukan dengan dua kali replikasi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi

Daun kesambi segar yang didapatkan dari desa Batukuda kecamatan Mancak, kabupaten Serang Banten, yaitu sebanyak 4500 g. Daun tersebut dikeringkan pada suhu kamar selama 1 minggu. Proses pengeringan dilakukan pada suhu kamar, terawasi dan tidak terpapar matahari langsung. Hal ini bertujuan untuk mencegah perubahan kimia, menghentikan reaksi enzimatik (penguraian bahan kimia) dan mengurangi kandungan air dari simplisia agar tidak mudah ditumbuhi jamur. Setelah betul-betul kering simplisia dapat disimpan dalam jangka waktu lama sebelum digunakan untuk analisis (Harborne, 2006). Serbuk daun kesambi yang diperoleh dari proses pengeringan sebanyak 1327 g kemudian dimaserasi selama 2 x 48 jam menggunakan pelarut metanol 96%. Penggunaan pelarut

metanol dalam maserasi terutama ekstraksi bahan alam, karena metanol merupakan pelarut universal. Metanol memiliki gugus polar (-OH) dan gugus nonpolar (-CH₃) yang dapat menarik analit- analit yang bersifat polar dan nonpolar (Astarina *et al.*, 2013).

Ekstrak kasar yang diperoleh dari proses maserasi sebanyak 3,5 L kemudian dievaporasi pada suhu 50°C. Hasil dari evaporasi ini akan menghasilkan ekstrak kering dalam bentuk seperti gel (kental) yang nantinya akan diuji kembali untuk menentukan kandungan senyawa metabolit sekunder dan uji aktivitas antioksidan dengan 3 fraksi. Proses evaporasi yang telah dilakukan menghasilkan ekstrak kering daun kesambi sebanyak 560 g (Tabel 1).

Tabel 1. Data rendemen daun kesambi (*Schleichera oleosa*)

No	Bahan	Bobot (gram)	Rendemen (%)
1.	Daun Kesambi Segar	4500	-
2.	Simplisia	1327	29,49
3.	Ekstrak	560	42,20

Skrining fitokimia metabolit sekunder

Ekstrak kering daun kesambi diidentifikasi menggunakan pereaksi-pereaksi yang dapat menunjukkan adanya senyawa metabolit sekunder. Berikut hasil uji fitokimia senyawa metabolit sekunder ekstrak daun kesambi (Tabel 2).

Uji aktivitas antioksidan

Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan ekstraksi pada ekstrak kering daun kesambi menggunakan pelarut dengan tingkat kepolaran berbeda. Pelarut yang digunakan yaitu n-heksan, etil asetat, dan air. Ekstraksi bertingkat ini dilakukan agar komponen yang bersifat nonpolar dapat tersari dalam pelarut n-heksan, komponen yang bersifat semi polar dapat tersari dalam pelarut etil asetat, dan komponen yang bersifat polar dapat tersari dalam pelarut air. Hasil pengujian sampel ekstrak daun kesambi dari ketiga fraksi diperoleh data pada Tabel 3.

Terhadap fraksi etil asetat dan air dilakukan perlakuan uji antioksidan yang sama. Hasil uji aktivitas antioksidan dari masing-masing ekstrak menunjukkan bahwa nilai aktivitas antioksidan dari fraksi ekstrak etil asetat memiliki nilai penghambatan radikal yang kuat dibandingkan dengan fraksi

lainnya. Hal ini ditunjukkan dengan nilai IC₅₀ yang didapatkan dari masing- masing fraksi. Nilai IC₅₀ yang dihasilkan dari fraksi etil asetat yaitu 206,0851 ppm, fraksi *n*-heksan yaitu 425,1143 ppm, dan fraksi air yaitu 272,2891 ppm. Nilai IC₅₀ tersebut didapatkan dari

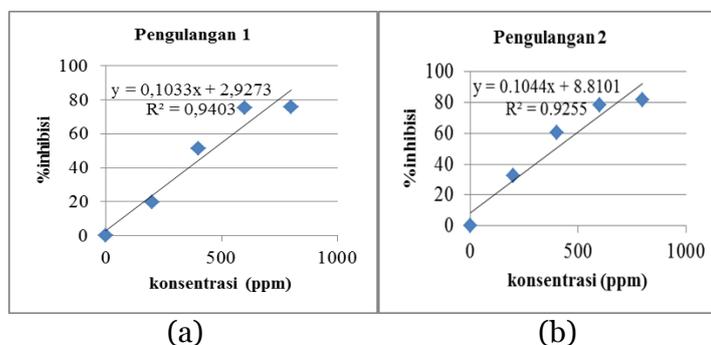
persamaan regresi linier, dengan memasukkan nilai $y = 50$, maka akan diketahui konsentrasi penghambatan oksidasi sebesar 50%. Semakin kecil nilai IC₅₀ yang diperoleh, maka akan semakin tinggi aktivitas antioksidannya.

Tabel 2. Hasil uji fitokimia ekstrak daun kesambi

Jenis uji	Pereaksi	Pengamatan	Warna	Hasil
Alkaloid	Kloroform, amoniak, dragendorff	Terbentuk endapan orange.	orange-merah	Positif
Flavonoid	Serbuk Mg, HCl pekat	Terjadi perubahan menjadi orange	orange	positif
	H ₂ SO ₄ 2N	Terjadi perubahan menjadi coklat tua	coklat	positif
	NaOH 10 %	Terjadi perubahan menjadi hijau lumut	hijau	positif
Terpenoid	Kloroform:air (1:1), asam asetat anhidrat, H ₂ SO ₄ pekat.	Terjadi perubahan menjadi hijau tua	hijau	negatif
Steroid	Kloroform:air (1:1), asam asetat anhidrat, H ₂ SO ₄ pekat.	Terjadi perubahan menjadi hijau tua	hijau	positif
Saponin	Air panas, HCl 2N	Buih hilang dalam waktu 10 menit	kuning orange	negatif
Fenolik	FeCl ₃ 5%	Terjadi perubahan menjadi biru kehitaman	biru -hitam	positif
Tannin	FeCl ₃ 1%	Terjadi perubahan menjadi hijau kehitaman	hijau-hitam	positif

Tabel 3. Data hasil uji aktivitas antioksidan fraksi *n*-heksan

Ulangan ke-	Konsentrasi (ppm)	% Inhibisi	Absorbansi	Persamaan linier	IC ₅₀ (ppm)
1	0	0,0000	1,0590	$y = 0,1033x + 2,9273$	455,6893
	200	19,5467	0,8520	$R^2 = 0,9403$	
	400	51,1804	0,5170		
	600	74,8820	0,2660		
	800	75,6374	0,2580		
2	0	0,0000	1,2690	$y = 0,1044x + 8,8101$	394,5393
	200	32,4665	0,8570	$R^2 = 0,9255$	
	400	60,5989	0,5000		
	600	78,3294	0,2750		
	800	81,4815	0,2350		
Rata -rata					425.1143



Gambar 1. Kurva persamaan regresi penetapan IC₅₀ fraksi *n*-heksan. (a) pengulangan 1, (b) pengulangan 2.

KESIMPULAN

Nilai indeks aktivitas antioksidan dari fraksi *n*-heksan, etil asetat dan air berturut-turut yaitu: 0,4638; 0,9567; 0,7241, hasil perhitungan indeks aktivitas antioksidan dapat dilihat juga pada lampiran 11. Fraksi etil asetat dan fraksi air memiliki indeks antioksidan yang sedang, sedangkan fraksi *n*-heksan memiliki indeks aktivitas antioksidan yang lemah.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustina, W.E.S., Retno, S.D.A., Ashadi, Mulyani, B., & Puti, C.R. 2014. Skrining Fitokimia dan Identifikasi Komponen Utama Ekstrak Metanol Kulit Durian (*Durio zlbethinus* Murr) Varietas Petruk. *Prosiding Seminar Nasional Kimia dan Pendidikan Kimia IV*, Surakarta, 2014:271-280.
- Ajileye, O.O., Obuotor, E.M., Akinkunmi, E.O., & Aderogba, M.A. 2015. Isolation and characterization of antioxidant and antimicrobial compounds from *Anacardium occidentale* L. (Anacardiaceae) leaf extract. *King Saud University*, 27:244-252.
- Arif, S. 2006. Radikal Bebas. *UNAIR Surabaya*, 2015, 1-9.
- Astarina, N.W.G., Astuti, K.W., & Warditiani, N.K. 2013. Skrining Fitokimia Ekstrak Metanol Rimpang Bangle (*Zingiber purpureum* Roxb.). *Universitas Udayana*, 2013, 1-7.
- Bachli, Y. 2007. Tanaman Kesambi dan Beternak Kutu Untuk Kesejahteraan. *Buletin BPTP*, Volume ke- 1(3).
- Harborne, J.B. 2006. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Bandung: ITB Bandung.
- Marlinda, M., Sangi, M.S., & Wuntu, A.D. 2012. Analisis Senyawa Metabolit Sekunder dan Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Biji Buah Alpukat (*Persea americana* Mill.). *Jurnal Mipa Unsrat Online*, 1(1):24-28.
- Rahayu, S., Kurniasih, N., & Amalia, V. 2015. Ekstraksi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid Dari Limbah Kulit Bawang Merah Sebagai Antioksidan Alami. *UIN Sunan Gunung Djati*, 2(1):1-8.
- Srinivas, K., & Baboo, C.R.V. 2013. Antioxidant Activity of Ethanolic Extract of Stem Bark of *Schleichera oleosa* (Lour.Oken). *Inter.J. of Pharmacotherapy*, 3(1):12-14.
- Suita, E. 2012. *Seri Teknologi Pembenihan Tanaman Hutan Kesambi (Schleicera oleosa MERR.)*. Bogor: Balai Penelitian Teknologi Perbenihan Tanaman Hutan.
- Thatavong, X. 2015. *Chemical Constituents and Biological Activities From Crude Hexane Extract of Schleichera Oleosa Fruits*. Chonburi: Burapha University.
- Trisharyanti, I., Melannisa, R., & Ratri, K. 2011. Korelasi Kandungan dan Aktivitas Antioksidan Daun Jambu Mete. *Biomedika*, 3(2):25-29.