

Isolasi Senyawa Antioksidan dari Kulit Batang *Sonneratia ovata* Backer

Fatati Nurmalasari, Taslim Ersam dan Sri Fatmawati
Jurusan Kimia, Fakultas MIPA, Institut Teknologi Sepuluh Nopember (ITS)
Jl. Arief Rahman Hakim, Surabaya 60111 Indonesia
e-mail: paktichem@gmail.com

Abstrak—Campuran Senyawa β -sitosterol (1a) dan stigmasterol (1b) telah diisolasi dari ekstrak metanol kulit batang *Sonneratia ovata* Backer dengan titik leleh 127-128 °C. *Sonneratia ovata* Backer merupakan tumbuhan mangrove yang berasal dari Pulau Dobo, Kepulauan Aru, Maluku yang telah banyak digunakan sebagai obat tradisional untuk berbagai penyakit. Isolasi dilakukan dengan ekstraksi (maserasi) dan kromatografi cair vakum (KCV). Senyawa hasil isolasi dikarakterisasi dengan IR dan ¹³C-NMR. Fraksi dan senyawa hasil isolasi menunjukkan aktivitas antioksidan dengan uji radikal DPPH. Fraksi dan senyawa hasil isolasi menunjukkan aktivitas antioksidan yang lebih rendah dibandingkan dengan asam galat sebagai kontrol positif dengan persentase penghambatan sebesar $43,652 \pm 0,013$ % dan $27,159 \pm 0,014$ % pada konsentrasi 319,458 $\mu\text{g/mL}$.

Kata Kunci—*Sonneratia*; isolasi; antioksidan; DPPH.

I. PENDAHULUAN

Tumbuhan mangrove di Indonesia merupakan yang terbanyak di dunia, baik dari segi kuantitas area sekitar 42.550 km² maupun jumlah spesies [1]. Mangrove mempunyai banyak sekali manfaat bagi kehidupan manusia, mulai dari manfaat ekologi hingga sebagai sumber pangan dan obat. Indonesia memiliki 38 jenis mangrove, di antaranya yaitu genus *Rhizophora*, *Bruguiera*, *Avicennia*, *Sonneratia*, *Xylocarpus*, *Barringtonia*, *Lumnitzera*, dan *Ceriops* [2].

Genus *Sonneratia* merupakan genus endemik di wilayah indo-barat pasifik. Genus ini merupakan elemen terdepan di muara mangrove dan teluk yang terdapat di pantai tropis Afrika Timur hingga Indo-Malaysia, Cina Selatan, New Guinea, Australia, dan pulau-pulau di Pasifik Barat. *Sonneratia* memiliki sembilan spesies yaitu *Sonneratia alba*, *S. apetala*, *S. caseolari*, *S. griffithii*, *S. gulngai*, *S. hainanensis*, *S. lanceolata*, *S. ovata*, dan *S. urama* [3].

Ekstrak dan bahan mentah dari tumbuhan mangrove telah banyak dimanfaatkan oleh masyarakat pesisir untuk keperluan obat-obatan alamiah. Campuran senyawa kimia bahan alam oleh para ahli kimia dikenal sebagai *pharmacopoeia*. Sejumlah tumbuhan mangrove dan tumbuhan asosiasinya digunakan pula sebagai bahan tradisional insektisida dan pestisida [4].

Bagian buah, kulit kayu, dan daun dari spesies *Sonneratia* telah digunakan dalam obat tradisional untuk mengobati penyakit seperti asma, obat penurun panas, bisul, hepatitis, ambeien, keseleo, dan pendarahan [5]. Dari penelitian sebelumnya, telah diisolasi tiga senyawa metabolit sekunder dari buah *S. ovata* yaitu (-)-(R)-nyasol (2), (-)-(R)-4'-O-metilnyasol (3) dan asam maslinat (4). Tiga senyawa tersebut menunjukkan aktivitas sitotoksik terhadap tikus glioma garis sel C-6

dengan nilai IC₅₀ masing-masing sebesar 19,02; 20,21; dan 31,77 $\mu\text{g/mL}$ [6]. Senyawa metabolit sekunder merupakan salah satu bahan baku obat dan memiliki struktur molekul serta aktivitas biologik yang beraneka ragam [7].

Penelitian mengenai isolasi senyawa dari kulit batang *Sonneratia ovata* Backer sebagai antioksidan belum dilakukan. Berdasarkan data di atas, maka perlu dilakukan penelitian untuk menambah peluang sumber obat yang dapat digunakan oleh masyarakat.

II. METODOLOGI PENELITIAN

A. Uji Pendahuluan

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah kulit batang tumbuhan mangrove *Sonneratia ovata* Backer yang diperoleh dari Pulau Dobo, Kepulauan Aru, Maluku. Sampel dibersihkan, dipotong menjadi potongan-potongan kecil dan dikeringkan di bawah sinar matahari. Kulit batang yang telah kering dihaluskan sehingga dihasilkan serbuk kering yang siap untuk diekstraksi.

Untuk pemilihan pelarut yang sesuai saat ekstraksi perlu dilakukan uji pendahuluan. Uji pendahuluan dilakukan dengan mengekstraksi serbuk kering kulit batang *Sonneratia ovata* Backer masing-masing sebanyak 25 g dengan pelarut organik yang berbeda sebanyak 200 mL yaitu *n*-heksana, metilen klorida, etil asetat dan metanol selama 1x24 jam. Hasil ekstraksi diamati menggunakan KLT dengan eluen tunggal *n*-heksana, metilen klorida, etil asetat dan metanol. Kemudian hasil KLT disemprot dengan larutan penampak noda 1,5 % serum sulfat dalam H₂SO₄. Dari analisis kromatogram KLT masing-masing ekstrak dapat dipilih pelarut yang sesuai untuk ekstraksi sampel.

B. Ekstraksi Kulit Batang *Sonneratia ovata* Backer

Serbuk kering kulit batang *Sonneratia ovata* Backer sebanyak 1,5 kg diekstraksi dengan cara maserasi dalam 7 L metanol selama 3x24 jam. Hasil ekstrak metanol berwarna coklat tua kemudian disaring untuk mendapatkan ekstrak cair. Ekstrak cair tersebut dipekatkan menggunakan *rotary evaporator vacuum* hingga diperoleh ekstrak metanol pekat sebanyak 153,721 g.

C. Fraksinasi dan Pemurnian

Ekstrak metanol pekat sebanyak 70,480 g diimpregnasi pada silika gel 60 (70-230 mesh) kemudian difraksinasi dengan metode Kromatografi Cair Vakum (KCV). Proses KCV I menggunakan pelarut *n*-heksana 100%, etil asetat 100% dan metanol 100%. Hasil fraksinasi ditampung dalam 29 vial masing-masing 300 mL dan dilakukan

monitoring menggunakan KLT dengan pelarut etil asetat:*n*-heksana (1:4). Fraksi yang memiliki pola noda dan R_f yang sama digabungkan. Dari KCV I dihasilkan 5 fraksi yaitu fraksi F₁ (0,385 g), fraksi F₂ (0,448 g), fraksi F₃ (1,794 g), fraksi F₄ (1,412 g), fraksi F₅ (4,965 g).

Fraksi F₂, F₃ dan F₄ memiliki profil noda yang hampir sama sehingga digabungkan dan difraksinasi lebih lanjut dengan metode Kromatografi Cair Vakum (KCV) Proses KCV II menggunakan pelarut etil asetat:*n*-heksana (0:100, 2:98, 5:95, 7:93, 15:85, 35:65, 100:0) yang ditingkatkan kepolarannya dan metanol. Hasil fraksinasi ditampung dalam 44 vial masing-masing 100 mL dan dilakukan monitoring dengan KLT menggunakan pelarut etil asetat:*n*-heksana (1:4). Fraksi yang memiliki pola noda dan R_f yang sama digabungkan. Dari KCV II dihasilkan 5 fraksi yaitu fraksi G₁ (0,7514 g), fraksi G₂ (0,4010 g), fraksi G₃ (0,1220 g), fraksi G₄ (0,3011 g), fraksi G₅ (1,6410 g).

Fraksi G₂ membentuk dua fasa yaitu fasa padat dan fasa cair. Kedua fasa tersebut dipisahkan, kemudian dilakukan monitoring dengan KLT. Padatan G₂ yang telah ditimbang (37,4 mg) dicuci dengan metanol dan dimurnikan dengan rekristalisasi menggunakan pelarut metilen klorida dan metanol. Padatan G₂ hasil rekristalisasi berwarna putih sebanyak 16,5 mg. Kemudian padatan G₂ diuji kemurniannya dengan uji KLT sistem 3 eluen yang berbeda kepolarannya yaitu etil asetat:*n*-heksana (5:95, 25:75, 40:60), uji KLT dua dimensi (etil asetat:*n*-heksana (25:75), metilen klorida) dan uji titik leleh.

D. Pengujian Spektrofotometer IR

Senyawa hasil isolasi sebanyak ± 1 mg ditambahkan ke dalam KBr lalu digerus hingga homogen, lalu dipadatkan hingga membentuk pelet. Pelet sampel diukur serapannya pada bilangan gelombang 500-4000 cm⁻¹ menggunakan Spektrofotometer IR.

E. Pengujian Spektrometer NMR

Sampel murni 12,1 mg dilarutkan dengan kloroform kemudian diinjeksikan ke dalam tabung *injection* pada alat spektrometer sehingga dapat diukur pergeseran kimianya pada 0-220 ppm.

F. Uji Antioksidan dengan Radikal DPPH

Metode yang digunakan untuk mengukur aktivitas penangkapan radikal DPPH secara kuantitatif adalah metode yang dilakukan oleh Brand Williams yang dimodifikasi oleh Dudonn'e (2009) [10]. Langkah pertama, pembuatan larutan DPPH radikal 6×10⁻⁵ M dengan melarutkan 1.182 mg DPPH kedalam 50 mL metanol. Langkah kedua, pembuatan larutan stok uji dari fraksi gabungan F₂₃₄, dan senyawa hasil isolasi masing-masing dengan melarutkan 10 mg sampel ke dalam 1 mL metanol. Kemudian dari larutan stok tersebut diencerkan konsentrasinya menjadi 5000 µg/mL, 2500 µg/mL, 1250 µg/mL, 625 µg/mL. Larutan tersebut dihomogenkan menggunakan *vortex mixer* selama 10 detik.

Larutan uji dipipet 33 µL dan dimasukkan ke dalam *tube* yang terlindung dari cahaya, kemudian ditambahkan 1 mL DPPH. Selanjutnya, larutan tersebut diinkubasi selama 20 menit. Selama proses reduksi oleh antioksidan, larutan DPPH radikal akan berubah warna dari ungu menjadi kuning pucat. Pengukuran absorbansi menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang

gelombang 515 nm (As). Larutan blanko yang digunakan terdiri dari 33 µL metanol dalam 1 mL DPPH yang diukur pada panjang gelombang yg sama (Ab). Asam galat digunakan sebagai kontrol positif. Perlakuan pada uji DPPH ini dilakukan dengan tiga kali pengulangan (*triplo*). Aktivitas penghambatan radikal dapat dihitung dengan menggunakan rumus di bawah ini:

$$\text{Inhibisi DPPH (\%)} = [(Ab-As) / Ab] \times 100 \quad (1)$$

Keterangan:

Ab = Absorbansi blanko

As = Absorbansi sampel

Setelah diperoleh persentase inhibisi dari masing-masing konsentrasi, ditentukan persamaan $Y = AX^2 + BX + C$ dengan perhitungan secara regresi dimana X adalah konsentrasi (µg/mL) dan Y adalah persentase inhibisi. Aktivitas antioksidan dinyatakan dengan *Inhibisi Concentration 50%* yaitu konsentrasi larutan uji yang dapat meredam radikal DPPH sebanyak 50%.

III. HASIL DAN DISKUSI

A. Uji Pendahuluan

Sampel kulit batang tumbuhan mangrove *Sonneratia ovata* Backer yang telah diperoleh terlebih dahulu dibersihkan, dipotong menjadi potongan-potongan kecil dan dikeringkan di bawah sinar matahari. Proses pengeringan bertujuan untuk menghilangkan kadar air sampel. Bahan kering tersebut kemudian dihaluskan hingga menjadi serbuk untuk memperbesar luas permukaannya sehingga mengoptimalkan proses ekstraksi yang dilakukan.

Sebelum proses ekstraksi, terlebih dahulu dilakukan uji pendahuluan untuk menentukan pelarut yang digunakan. Uji pendahuluan dilakukan dengan mengekstraksi serbuk kering kulit batang *Sonneratia ovata* Backer masing-masing sebanyak 25 g dengan pelarut organik yang berbeda sebanyak 200 mL yaitu *n*-heksana, metilen klorida, etil asetat dan metanol selama 1x24 jam. Ekstrak *n*-heksana, metilen klorida, etil asetat dan metanol dielusi menggunakan eluen metanol dengan plat KLT. Hasil analisis kromatogram KLT menunjukkan bahwa pelarut metanol memiliki kemampuan mengekstrak lebih baik dibandingkan pelarut yang lain. Metanol merupakan pelarut yang mampu mengekstrak lebih banyak senyawa baik yang bersifat non polar maupun polar.

B. Ekstraksi dan Fraksinasi

Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi karena maserasi memiliki beberapa kelebihan diantaranya cara yang digunakan mudah dan sederhana, dapat digunakan untuk sampel dengan jumlah yang besar, dan tidak terjadi dekomposisi senyawa karena dilakukan pada suhu kamar. Sampel kulit batang *Sonneratia ovata* Backer sebanyak 1,5 kg dimaserasi selama 3x24 jam menggunakan pelarut metanol sebanyak 7 L. Proses maserasi dilakukan berulang-ulang untuk mengoptimalkan proses ekstraksi pada sampel. Proses maserasi dimonitoring menggunakan KLT dan dapat dihentikan setelah noda pada plat KLT tidak tebal lagi. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa-senyawa yang dapat diekstrak oleh pelarut metanol telah terekstrak semua. Hasil ekstrak metanol berwarna coklat dan keseluruhan ekstrak yang diperoleh diuapkan sehingga diperoleh ekstrak metanol pekat sebanyak 153,72 g.

C. Fraksinasi dan Pemurnian

Ekstrak metanol pekat kulit batang *Sonneratia ovata* Backer sebanyak 70,480 g difraksinasi menggunakan metode Kromatografi Cair Vakum (KCV). Metode kromatografi cair vakum (KCV) ini dipilih karena dapat memisahkan sampel dalam jumlah cukup besar dalam waktu singkat dan dapat memisahkan senyawa-senyawa target ke dalam fraksi-fraksi yang lebih sederhana. Pelarut yang digunakan yaitu *n*-heksana, etil asetat dan metanol. Untuk mengontrol peningkatan kepolaran pelarut dilakukan monitoring menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dengan pelarut etil asetat:*n*-heksana (1:4). Monitoring ini bertujuan untuk mengetahui distribusi senyawa pada tiap vial yang dapat dilihat dari pola noda hasil KLT. Pengelompokan fraksi berdasarkan pola noda dan Rf yang sama sehingga didapatkan lima fraksi gabungan dan kromatogram KLT fraksi gabungan. Untuk melihat profil noda keseluruhan, hasil KLT disemprot menggunakan reagen penampak noda $Ce(SO_4)_2$ 1,5%. Dihasilkan lima subfraksi gabungan F₁ (0,385 g), F₂ (0,448 g), F₃ (1,794 g), F₄ (1,412 g), dan F₅ (4,965 g).

Fraksi F₂, F₃ dan F₄ memiliki profil noda yang hampir sama sehingga digabung dan diberi nama fraksi F₂₃₄. Fraksi₂₃₄ difraksinasi lebih lanjut dengan metode KCV dan dielus dengan eluen metilen klorida:*n*-heksana yang ditingkatkan kepolarannya (0:100, 2:98, 5:95, 7:93, 15:85, 35:65, dan 100:0). Untuk mengontrol peningkatan kepolaran pelarut dilakukan monitoring menggunakan KLT dengan pelarut etil asetat: *n*-heksana (1:4). Hasil KCV dimonitoring di atas plat KLT menggunakan campuran etil asetat:*n*-heksana (1:4). Pengelompokan fraksi berdasarkan pola noda dan Rf yang sama sehingga didapatkan lima fraksi gabungan dan kromatogram KLT fraksi gabungan. Untuk melihat profil noda keseluruhan, hasil KLT disemprot menggunakan reagen penampak noda $Ce(SO_4)_2$ 1,5%. Dihasilkan lima subfraksi gabungan G₁ (0,751 g), G₂ (0,401 g), G₃ (0,122 g), G₄ (0,301 g), dan G₅ (1,641 g).

Fraksi G₂ membentuk dua fasa yaitu fasa padat dan fasa cair. Fasa padat G₂ berwarna putih dan fasa cair G₂ berwarna orange. Kedua fasa tersebut dipisahkan dan dilihat profil nodanya pada KLT. massa padatan G₂ sebesar 37,4 mg. Pada kromatogram KLT masih terlihat bahwa padatan G₂ hasil isolasi masih mengekor, hal ini mengindikasikan bahwa endapan tersebut belum murni dan perlu dilakukan rekristalisasi. Sebelumnya dilakukan uji kelarutan menggunakan lima macam pelarut dimana padatan G₂ tidak larut pada metanol, larut sebagian pada etil asetat dan metilen klorida serta larut sempurna pada kloroform dan *n*-heksana. Uji kelarutan ini berguna untuk referensi yang digunakan dalam penentuan pelarut untuk rekristalisasi dan analisis penentuan struktur.

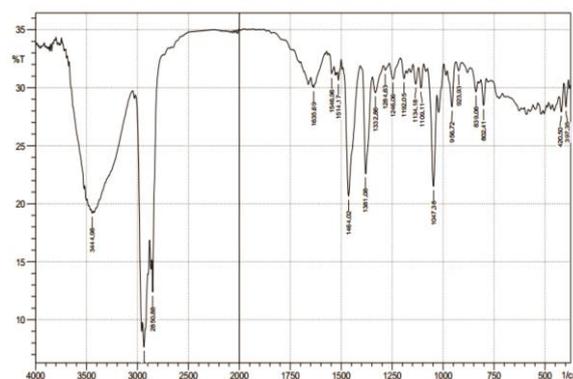
Fasa padat G₂ dicuci dengan metanol dan selanjutnya rekristalisasi menggunakan 2 macam pelarut yaitu metilen klorida panas dan metanol dingin. Pemilihan pelarut karena metilen klorida melarutkan sebagian endapan pada suhu ruang dan melarutkan sempurna fasa padat G₂ pada suhu tinggi, sedangkan metanol yang tidak melarutkan akan membantu proses pembentukan endapan (pengendapan). Kedua hal ini merupakan prinsip dari rekristalisasi. Setelah terbentuk padatan berwarna putih, padatan tersebut disaring vakum dan dicuci dengan metanol yang bertujuan untuk melarutkan

pengotor yang masih tersisa. Proses rekristalisasi ini menghasilkan padatan seberat 16,5 mg.

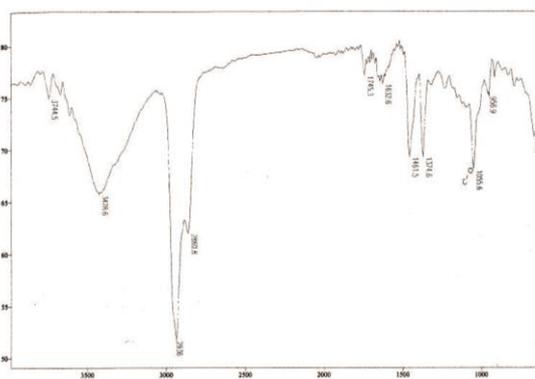
Padatan hasil rekristalisasi diuji kemurniannya menggunakan KLT dengan tiga eluen yang berbeda dan diperoleh noda tunggal dengan Rf yang berbeda. Kemudian diuji menggunakan KLT 2D dan diperoleh noda tunggal. Dari dua uji tersebut mengindikasikan bahwa padatan telah murni. Selanjutnya dilakukan uji titik leleh pada senyawa hasil isolasi menggunakan alat pengukur titik leleh *Fisher John Melting Point* dan diperoleh titik leleh sebesar 127-128 °C. Senyawa dikatakan murni jika rentang titik lelehnya ± 1 °C.

D. Penentuan Struktur

Senyawa hasil isolasi berupa padatan berwarna putih dengan massa 16,5 mg dan titik leleh 127-128 °C. Analisis spektrum inframerah (KBr) pada bilangan gelombang 500-4000 cm⁻¹ memperlihatkan pita-pita serapan yang khas untuk beberapa gugus fungsi (Gambar 2). Serapan pada bilangan gelombang 1047 cm⁻¹ menunjukkan adanya gugus C-O, serapan pada bilangan gelombang 1464 cm⁻¹ menunjukkan adanya gugus C=C, serapan pada bilangan gelombang 2935 cm⁻¹ menunjukkan gugus C-H sp³ dan 3444 cm⁻¹ menunjukkan gugus O-H.



Gambar 1. Spektrum IR senyawa hasil isolasi dalam KBr



Gambar 2. Spektrum IR senyawa steroid dalam KBr [8]

Kandungan senyawa yang terdapat pada Genus *Sonneratia* yaitu golongan flavonoid, terpenoid dan steroid. Data spektrum IR senyawa hasil isolasi perlu dibandingkan dengan beberapa senyawa yang telah dilaporkan sebelumnya dan hasil tersebut memiliki kesamaan pola dengan serapan bilangan gelombang senyawa triterpen jenis steroid yaitu pada serapan 1056, 1462, 2936, dan 3429 cm⁻¹ (Gambar 3) serta didukung bahwa senyawa hasil isolasi tidak memiliki serapan gugus C=C aromatik pada bilangan gelombang 1475 cm⁻¹.

Penentuan struktur selanjutnya menggunakan analisis spektrum $^{13}\text{C-NMR}$ pada frekuensi 125 MHz menggunakan pelarut CDCl_3 . Analisis spektrum $^{13}\text{C-NMR}$ memperlihatkan sinyal-sinyal pada pergeseran kimia (δc) dari 0-230 ppm (Gambar 4.11). Adanya pergeseran kimia pada 140,878; 138,467; 129,395 dan 121,870 ppm merupakan pergeseran khas dari karbon alkena ($\text{C}=\text{C}$), pergeseran 71,954 ppm merupakan pergeseran dari karbon ($-\text{C-OH}$), pergeseran 36,29 ppm merupakan pergeseran khas dari karbon metin ($-\text{CH-}$), pergeseran 29,07 ppm merupakan pergeseran karbon metilen ($-\text{CH}_2-$) dan untuk pergeseran 12,41 ppm merupakan pergeseran khas dari karbon metil ($-\text{CH}_3-$).

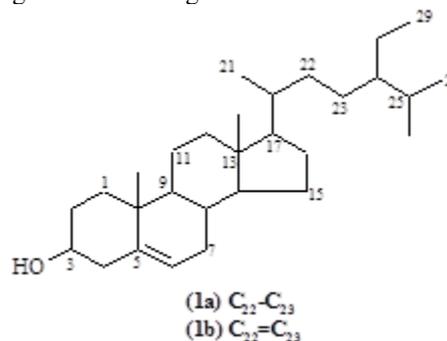
Analisis data spektrum $^{13}\text{C-NMR}$ senyawa hasil isolasi memperlihatkan adanya 44 sinyal karbon. Golongan senyawa steroid memiliki jumlah atom karbon 27 (zimasterol), 28 (ergosterol), dan 29 (stigmasterol) sehingga diprediksi senyawa tersebut terdiri dari dua isomer senyawa steroid. Struktur senyawa hasil isolasi ini memiliki kesamaan dengan campuran senyawa β -sitosterol (**1a**) dan stigmasterol (**1b**) sehingga perlu adanya perbandingan spektrum $^{13}\text{C-NMR}$ antara senyawa hasil isolasi dengan campuran senyawa β -sitosterol (**1a**) dan stigmasterol (**1b**) (Tabel 1)

TABEL 1. DATA PERBANDINGAN PERGESERAN (ΔC) $^{13}\text{C-NMR}$ SENYAWA HASIL ISOLASI DENGAN β -SITOSTEROL (**1a**) DAN STIGMASTEROL (**1b**) [9]

| Nomor Karbon | Senyawa Hasil Isolasi | β -sitosterol dan stigmasterol |
|---------------------|------------------------|--------------------------------------|
| | δc (ppm) | δc (ppm) |
| 5a, 5b | 140,87 | 140,72 |
| 22b | 138,46 | 138,31 |
| 23b | 129,39 | 129,25 |
| 6a, 6b | 121,87 | 121,71 |
| 3a, 3b | 71,95 | 71,80 |
| 14b | 57,00 | 56,85 |
| 14a | 56,90 | 56,73 |
| 17a | 56,18 | 56,02 |
| 17b | 56,08 | 55,93 |
| 24b | 51,38 | 51,22 |
| 9a, 9b | 50,26 | 50,10 |
| 24a | 45,96 | 45,81 |
| 13a, 13b, 4b | 42,42 | 42,26 |
| 4a | 42,35 | 42,19 |
| 20b | 40,66 | 40,48 |
| 12a | 39,91 | 39,74 |
| 12b | 39,81 | 39,66 |
| 1a, 1b | 37,39 | 37,22 |
| 10a, 10b | 36,64 | 36,48 |
| 20a | 36,29 | 36,12 |
| 22a | 34,07 | 33,91 |
| 7a, 7b, 8a, 8b, 25b | 32,04 | 31,87 |
| 2a, 2b | 31,79 | 31,63 |
| 25a | 29,27 | 29,11 |
| 16b | 29,07 | 28,91 |
| 16a | 28,40 | 28,22 |
| 23a | 26,18 | 26,02 |
| 28b | 25,56 | 25,39 |
| 15b | 24,51 | 24,34 |
| 15a | 24,45 | 24,29 |

| | | |
|---------------|-------|-------|
| 28a | 23,19 | 23,04 |
| 26b | 21,36 | 21,20 |
| 11a, 11b, 21b | 21,22 | 21,07 |
| 26a | 19,97 | 19,80 |
| 19a, 19b | 19,54 | 19,39 |
| 27a | 19,17 | 19,01 |
| 27b | 19,12 | 18,96 |
| 21a | 18,92 | 18,76 |
| 29b | 12,41 | 12,23 |
| 18b | 12,19 | 12,03 |
| 29a | 12,12 | 11,97 |
| 18a | 12,00 | 11,84 |

Berdasarkan analisis hasil tersebut dapat dinyatakan bahwa senyawa hasil isolasi identik dengan campuran senyawa β -sitosterol (**1a**) dan stigmasterol (**1b**). Kedua senyawa tersebut merupakan senyawa mayor dari golongan fitosterol yang paling sering ditemukan pada membran sel tumbuhan. Struktur β -sitosterol (**1a**) merupakan isomer gugus fungsi dari senyawa stigmasterol (**1b**). Struktur senyawa hasil isolasi tersebut dapat digambarkan sebagai berikut:

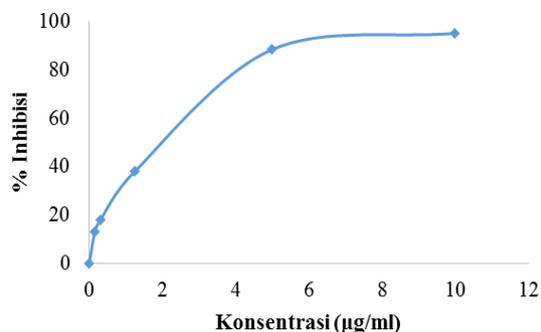


E. Uji Antioksidan dengan Radikal Bebas DPPH

Metode yang digunakan untuk mengukur aktivitas penangkapan radikal DPPH secara kuantitatif adalah metode yang dilakukan oleh Brand Williams yang dimodifikasi oleh Dudonn'e (Brand-Williams, 1995) (Dudonn'e, 2009). Metode ini dipilih karena sederhana dan hanya memerlukan sedikit sampel. Pada proses pengujian, zat uji akan mendonorkan atom hidrogennya kepada radikal bebas DPPH sehingga DPPH tereduksi menjadi senyawa nonradikal yaitu 1,1-difenil-2-pikrilhidrazin yang stabil dan ditandai dengan perubahan warna ungu menjadi kuning pucat (Bendra, 2012). Semakin kecil absorbansi larutan uji dibandingkan dengan blanko maka semakin baik kemampuan suatu senyawa dalam meredam radikal DPPH. Pengukuran absorbansi dengan spektrofotometer UV-vis pada panjang gelombang 515 nm.

Sampel uji yang diukur aktivitas antioksidan adalah fraksi F_{234} , senyawa hasil isolasi serta asam galat sebagai kontrol positif dengan beberapa variasi konsentrasi yaitu 10.000 $\mu\text{g/mL}$, 5000 $\mu\text{g/mL}$, 2500 $\mu\text{g/mL}$, 1250 $\mu\text{g/mL}$, dan 625 $\mu\text{g/mL}$. Setelah diperoleh persentase inhibisi dari masing-masing konsentrasi, ditentukan persamaan $Y = AX^2 + BX + C$ dengan perhitungan regresi dimana X adalah konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$) dan Y adalah persentase penghambatan. Aktivitas antioksidan dinyatakan dengan *Inhibisi Concentration 50%* yaitu konsentrasi larutan uji yang dapat meredam radikal DPPH sebanyak 50%.

Pada konsentrasi penghambatan 319,458 $\mu\text{g/mL}$ fraksi F_{234} , senyawa hasil isolasi serta asam galat memiliki persentase penghambatan masing-masing sebesar $43,652 \pm 0,013\%$; $27,159 \pm 0,014\%$ dan $96,410\%$. Fraksi F_{234} dan senyawa hasil isolasi memiliki aktivitas antioksidan yang rendah dilihat dari persentase penghambatan terhadap radikal DPPH dibawah 50%. Sedangkan untuk asam galat dibuat kurva persentase penghambatan DPPH yang menghasilkan persamaan untuk perhitungan nilai IC_{50} (Gambar 3).



Gambar 3. Aktivitas Penghambatan DPPH dari asam galat

Kurva aktivitas penghambatan DPPH dari asam galat menghasilkan persamaan $Y = -1,574X^2 + 24,466X + 7,116$ dengan $R^2 = 0,990$. Selanjutnya dihitung IC_{50} yaitu konsentrasi penghambatan untuk meredam radikal DPPH sebanyak 50% dan dari perhitungan didapatkan $X_1 = 13,525$ dan $X_2 = 2,018$. Nilai IC_{50} dari asam galat sebesar $2,018 \mu\text{g/mL}$. Nilai $13,525$ tidak digunakan karena nilai tersebut keluar dari *range* kurva. Semakin kecil nilai IC_{50} menunjukkan bahwa sampel uji aktif sebagai antioksidan. Uji aktivitas penghambatan radikal DPPH menunjukkan bahwa fraksi F_{234} dan senyawa hasil isolasi memiliki aktivitas penghambatan lebih rendah dibandingkan asam galat sebagai kontrol positif.

IV. KESIMPULAN

Isolasi senyawa dari kulit batang *Sonneratia Ovata* Backer menghasilkan campuran senyawa β -sitosterol (**1a**) dan stigmasterol (**1b**) yang belum pernah dilaporkan untuk spesies *Sonneratia Ovata* Backer. Senyawa hasil isolasi tersebut menunjukkan aktivitas antioksidan yang rendah dengan persentase penghambatan sebesar $27,159 \pm 0,014\%$ pada konsentrasi penghambatan $319,458 \mu\text{g/mL}$

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih disampaikan kepada tim penelitian Laboratorium Kimia Bahan Alam dan Sintesis Jurusan Kimia FMIPA ITS, serta semua pihak yang turut membantu.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Spalding, M., Ravilious, C., Green, E. (2001). "World Atlas of Coral Reef". Berkeley USA: University of California Press.
- [2] Supriharyono. (2000). "Pelestarian dan Pengelolaan Sumberdaya Alam Wilayah Pesisir Tropis". Jakarta: Gramedia Pustaka.
- [3] Duke, N.C., (2006). "Australia's Mangroves. The Authoritative Guide to Australia's Mangrove Plants". University of Queensland, Brisbane, 200 pp.
- [4] Purnobasuki, H. (2004). "Prospect of Mangrove as Herbal Medicine". Biota IX (2), 125-126.
- [5] Nguyen, T.-H.-T. (2015). "Chemical Constituents from *Sonneratia Ovata* Backer and Their In Vitro Cytotoxicity and Acetylcholinesterase Inhibitory Activities". Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters 25, 2366–2371.
- [6] Wu, S.-B. (2009). "Chemical Constituents from The Fruits of *Sonneratia Caseolaris* and *Sonneratia Ovata* (Sonneratiaceae)". Biochemical Systematics and Ecology 37, 1-5.
- [7] Deus B., MH Zenk. (1982). "Exploitation of plant cells for the production of natural compounds". Biotechnol Bioeng 24, 1965-1974.
- [8] Tukiran, Hamdani, B. E., Mahyudi, R., Syarif, S. H., Hidayati, N. (2009). "Beberapa Senyawa Hasil Isolasi dari Kulit Batang Tumbuhan Kedoya (*Dysoxylum gaudichaudianum* (A. Juss.) Miq.) (Meliaceae)". Jurnal Ilmu Dasar, Vol. 10 No. 2, 236-244.
- [9] De-Eknamkul, W., Potduang, B. (2003). "Biosynthesis of β -sitosterol and stigmasterol in *Croton sublyratus* proceeds via a mixed origin of isoprene units". Phytochemistry 62, 389–398.
- [10] Dudonn'e, S. Vitrac, X., Couti'ere, P., Woillez, M., M'erillon, J.-M., (2009). "Comparative Study of Antioxidant Properties and Total Phenolic Content of 30 Plant Extracts of Industrial Interest Using DPPH, ABTS, FRAP, SOD, and ORAC Assay". Journal of Agricultural and Food Chemistry 57: 1768-1774.