

Identifikasi Metabolit Sekunder Ekstrak Metanol Akar dan Batang Merung (*Coptosapelta tomentosa*) yang Memiliki Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode KLT Autografi

Nurul Yasmin^{1,*}, Wahyu Widayat^{1,2}, Angga Cipta Narsa^{1,3}

¹ Laboratorium Penelitian dan Pengembangan Kefarmasian “Farmaka Tropis”,
Fakultas Farmasi, Universitas Mulawarman, Samarinda, Indonesia

² Kelompok Bidang Ilmu Biologi, Fakultas Farmasi, Universitas Mulawarman, Samarinda, Indonesia

³ Kelompok Bidang Ilmu Teknologi dan Farmsetika, Fakultas Farmasi,
Universitas Mulawarman, Samarinda, Indonesia

*Email: nurulyasmn@gmail.com

Abstract

Secondary metabolites produced by plants have been known to have a variety of biological activities including antioxidants that serve to ward off oxidant compounds and free radicals. The roots of merung (*Coptosapelta tomentosa*) has been known to have strong activity as an antioxidant while antioxidant activity in the stem is not yet known to date. This research aims to determine the secondary metabolites that have antioxidant activity on the root extracts and the stem of the vines qualitatively. The root extract and the stem of the merung plant are extracted with a methanol solvent using the maceration method. Antioxidant activity and identification of secondary metabolites are carried out qualitatively by the method of autography using the 2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl compound (DPPH) and some reagents of the secondary metabolite. Antioxidant activity of the merung root extract is on spot with RF 0.08 and 0.66. Spot with the RF 0.66 shows the brown color when reacted FeCl₃, fluorescent yellow in UV rays 254 and 366 nm after reacted AlCl₃ and red when reacted with KOH. The antioxidant activity of the merung stem extracts is at Rf 0.16, 0.33, 0.58, 0.66, and 0.75. Spot with the Rf 0.16 shows the color of brown when reacted FeCl₃ and fluorescent blue in UV rays 254 and 366 nm after reacted AlCl₃. Secondary metabolites that have antioxidant activity on root extracts and stems are suspected to be derivative phenolic compounds derived from flavonoid compounds.

Keywords: Antioxidant, DPPH, KLT Autograph, Merung, *Coptosapelta tomentosa*

Abstrak

Metabolit sekunder yang dihasilkan oleh tumbuhan telah diketahui memiliki berbagai aktivitas biologis diantaranya adalah antioksidan yang berfungsi menangkal senyawa oksidan dan radikal bebas. Akar dari tumbuhan Merung (*Coptosapelta tomentosa*) telah diketahui memiliki aktivitas sebagai antioksidan sedangkan aktivitas antioksidan pada bagian batang belum diketahui hingga saat ini. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui metabolit sekunder yang memiliki aktivitas antioksidan pada ekstrak akar dan batang tumbuhan merung secara kualitatif. Ekstrak akar dan batang tumbuhan merung diekstraksi dengan pelarut

metanol menggunakan metode maserasi. Aktivitas antioksidan dan identifikasi metabolit sekunder dilakukan secara kualitatif dengan metode KLT autografi menggunakan senyawa 2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl (DPPH) dan beberapa pereaksi spesifik metabolit sekunder. Aktivitas antioksidan dari ekstrak akar merung berada pada spot dengan Rf 0,08 dan 0,66. Spot dengan rf 0,66 menunjukkan warna coklat saat direaksikan FeCl₃, berpendar kuning pada sinar UV 254 dan 366 nm setelah direaksikan AlCl₃ dan berwarna merah saat direaksikan dengan KOH. Aktivitas antioksidan dari ekstrak batang merung berada pada Rf 0,16, 0,33, 0,58, 0,66, dan 0,75. Spot dengan Rf 0,16 menunjukkan warna coklat saat direaksikan FeCl₃ dan berpendar biru pada sinar UV 254 dan 366 nm setelah direaksikan AlCl₃. Metabolit sekunder yang memiliki aktivitas antioksidan pada ekstrak akar dan batang diduga merupakan senyawa turunan fenolik turunan senyawa flavonoid.

Kata Kunci: Antioksidan, DPPH, KLT Autografi, Merung, *Coptosapelta tomentosa*

DOI: <https://doi.org/10.25026/mpc.v10i1.353>

■ Pendahuluan

Radikal bebas adalah suatu atom atau molekul yang mempunyai elektron tidak berpasangan. Proses oksidasi radikal bebas dapat dihambat atau dinetralkan oleh senyawa yang tergolong antioksidan. Antioksidan adalah zat yang dapat menangkal atau mencegah reaksi oksidasi yang disebabkan oleh radikal bebas. Senyawa fenolik dan flavonoid yang terkandung dalam tanaman diketahui dapat menangkal radikal bebas [1].

Salah satu tumbuhan yang diketahui memiliki aktivitas antioksidan yaitu tumbuhan merung (*Coptosapelta tomentosa*). Berdasarkan hasil skrining fitokimia, semua ekstrak bagian dari tumbuhan merung mengandung alkaloid, flavonoid, saponin dan fenolik [2, 3, 4]. Sedangkan saponin hanya terdapat pada ekstrak daun [5] dan pada bagian akar tumbuhan merung diketahui mengandung antrakuinon [3]. Bagian akar dari tumbuhan merung telah diketahui memiliki aktivitas sebagai antioksidan sedangkan aktivitas antioksidan pada bagian batang belum diketahui hingga saat ini. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui metabolit sekunder yang memiliki aktivitas antioksidan pada ekstrak akar dan batang tumbuhan merung secara kualitatif menggunakan metode KLT autografi.

KLT autografi merupakan salah satu metode yang digunakan untuk pengujian aktivitas antioksidan secara kualitatif, dengan penyemprotan pereaksi spesifik DPPH. KLT autografi merupakan metode pemisahan dan identifikasi senyawa yang relatif sederhana dan cepat. Teknik ini menggunakan pengamatan langsung pada spot yang terbentuk

setelah dilakukan penyemprotan dengan reagen spesifik [6].

■ Metode Penelitian

Bahan

Bahan yang digunakan adalah AlCl₃ (Merck®), aquades, DPPH (Aldrich), etil asetat, etanol, FeCl₃ (Merck®), KOH (Merck®), lempeng KLT GF₂₅₄ (Merck®), metanol, n-heksana, simplisia akar dan batang merung, dan sitroborat (Merck®).

Populasi dan Sampel

Sampel yang digunakan adalah tumbuhan merung diperoleh dari Kabupaten Tenggarong, Kalimantan Timur. Sampel di sortasi dipisahkan dari pengotor. Kemudian di cuci lalu ditiriskan, setelah itu sampel dikeringkan dan dipotong-potong diambil bagian akar dan batang tumbuhan.

Ekstraksi Sampel

Sampel yang telah kering sebanyak 500 g, diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut metanol selama 24 jam, lalu disaring. Setelah itu maserat yang telah dipisahkan dipisahkan menggunakan *rotary evaporator*.

Skrining Aktivitas Antioksidan

Ekstrak akar dan batang merung sebanyak 500 mg dilarutkan menggunakan etil asetat, kemudian ditotolkan pada lempeng KLT (8 cm x 1,5 cm) dan dielusi dengan eluen terpilih yaitu n-heksan : etil asetat perbandingan 8:2 untuk ekstrak

akar, sedangkan untuk ekstrak batang menggunakan perbandingan 6:4. Setelah di elusi, plat tersebut dikeringkan dengan cara diangin-anginkan kemudian disemprot dengan larutan DPPH 100 ppm. Hasil positif menunjukkan terbentuknya noda berwarna kuning dengan latar berwarna ungu pada daerah spot [7].

Identifikasi Metabolit Sekunder

a. Uji Flavonoid

Ekstrak akar dan batang merung ditotolkan pada lempeng KLT dan dielusi dengan eluen terpilih yaitu n-heksan : etil asetat. Setelah di elusi, plat tersebut dikeringkan dengan cara diangin-anginkan kemudian disemprot dengan pereaksi $AlCl_3$ atau sitroborat. Setelah itu diamati bercak pada lampu UV 254 dan 366. Hasil positif mengandung flavonoid spot akan berfluoresensi kuning gelap, hijau atau biru [8].

b. Uji Fenolik

Ekstrak akar dan batang merung ditotolkan pada lempeng KLT dan dielusi dengan eluen terpilih yaitu n-heksan : etil asetat. Setelah di elusi, plat tersebut dikeringkan dengan cara diangin-anginkan kemudian disemprot dengan pereaksi $FeCl_3$. Setelah itu diamati bercak pada lampu UV 254 dan 366. Hasil positif mengandung fenol jika spot memberikan warna hitam, coklat, biru kehitaman, hijau atau biru kehijauan [9].

c. Uji Antrakuinon

Ekstrak akar dan batang merung ditotolkan pada lempeng KLT dan dielusi dengan eluen terpilih yaitu n-heksan : etil asetat. Setelah di elusi, plat tersebut dikeringkan dengan cara diangin-anginkan kemudian disemprot dengan pereaksi KOH 10%. Kemudian diamati bercak pada lampu UV 254 dan 366. Hasil

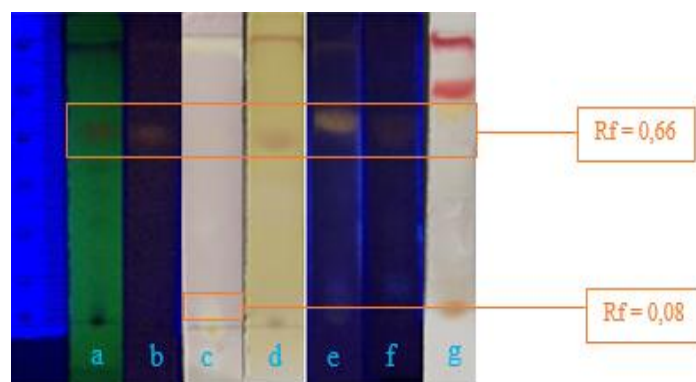
positif mengandung antrakuinon jika spot memberikan warna merah [10, 3].

■ Hasil dan Pembahasan

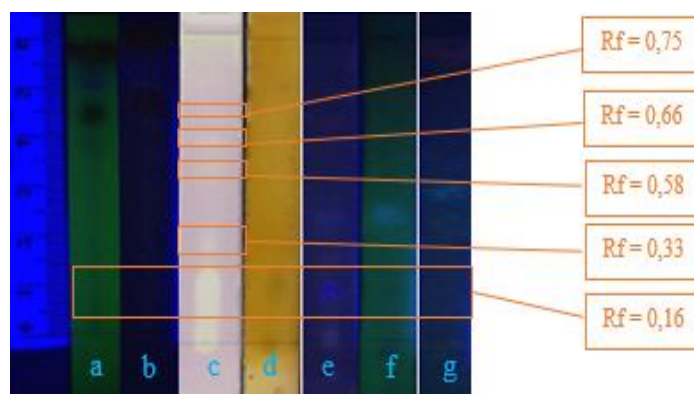
Metabolit sekunder merupakan senyawa yang dihasilkan oleh makhluk hidup yang disintesis oleh tumbuhan, mikroba atau hewan melewati proses biosintesis yang digunakan untuk menunjang kehidupan namun tidak vital [8]. Metabolit sekunder memiliki beberapa aktivitas, diantaranya senyawa fenolik dan flavonoid yang terkandung dalam tanaman diketahui dapat menangkalkan radikal bebas atau bersifat antioksidan [1].

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui metabolit sekunder yang memiliki aktivitas antioksidan yang terdapat pada ekstrak akar dan batang tumbuhan merung menggunakan metode KLT autografi. Senyawa diidentifikasi berdasarkan penampakan dan jarak relatif komponen terhadap jarak pelarut (nilai R_f) yang kemudian dibandingkan dengan spot standar untuk analisis kualitatifnya [6].

Keberadaan senyawa antioksidan dideteksi dengan timbulnya spot kuning dengan latar pelat KLT berwarna ungu setelah penyemprotan dengan larutan DPPH [6]. Selanjutnya, noda yang memiliki aktivitas diidentifikasi metabolit sekundernya dengan cara disemprot dengan pereaksi spesifik $AlCl_3$, KOH 10%, $FeCl_3$ 10%, dan sitroborat lalu diamati perubahannya. Hasil identifikasi metabolit sekunder dan aktivitas antioksidan dapat dilihat pada Gambar 1 dan Gambar 2.



Gambar 1. (a) Profil pengamatan KLT ekstrak akar merung dibawah sinar UV (b) 254 nm, sinar UV 366 nm, (c) setelah disemprot DPPH 100 ppm, (d) positif mengandung senyawa fenolik dengan pereaksi $FeCl_3$, (e) positif mengandung senyawa flavonoid dengan pereaksi $AlCl_3$, (f) positif mengandung senyawa flavonoid dengan pereaksi sitroborat, (g) positif mengandung senyawa antrakuinon dengan pereaksi KOH



Gambar 2. (a) Profil pengamatan KLT ekstrak batang merung dibawah sinar UV 254 nm, (b) sinar UV 366 nm, (c) setelah disemprot DPPH 100 ppm, (d) positif mengandung senyawa fenolik dengan pereaksi FeCl₃, (e) positif mengandung senyawa flavonoid dengan pereaksi AlCl₃, (f) positif mengandung senyawa flavonoid dengan pereaksi sitroborat, (g) setelah disemprot pereaksi KOH dengan hasil negatif

Berdasarkan hasil identifikasi metabolit sekunder, diduga metabolit sekunder yang memiliki aktivitas antioksidan pada ekstrak akar tumbuhan merung dengan eluen n-heksana : etil asetat (8:2) berada pada spot dengan rf 0,08 dan 0,66. Positif fenolik pada spot dengan rf 0,66 yang menunjukan warna coklat saat direaksikan FeCl₃, positif flavonoid dengan plat berpendar kuning pada sinar UV 254 dan 366 nm setelah direaksikan AlCl₃ dan berwarna merah saat direaksikan dengan KOH yang berarti menunjukkan hasil positif antrakuinon.

Sedangkan metabolit sekunder yang diduga memiliki aktivitas antioksidan pada ekstrak batang tumbuhan merung dengan eluen n-heksana : etil asetat (6:4) berada pada spot dengan rf 0,16, 0,33, 0,58, 0,66, dan 0,75. Pada spot dengan rf 0,16 menunjukan warna coklat saat direaksikan FeCl₃ yang merupakan positif fenolik, positif flavonoid plat berpendar biru pada sinar UV 254 dan 366 nm setelah direaksikan AlCl₃, dan tidak menunjukkan hasil positif antrakuinon setelah direaksikan dengan KOH.

Terbentuknya bercak kuning setelah penyemprotan DPPH disebabkan oleh adanya senyawa yang dapat mendonorkan atom hidrogen di dalam ekstrak sehingga dapat mengakibatkan molekul DPPH tereduksi yang diikuti dengan perubahan warna ungu dari larutan DPPH menjadi kuning bening [11]. Reaksi flavonoid dengan AlCl₃ yaitu bereaksi dengan gugus keto pada C4 dan gugus OH pada C3 atau C5 pada senyawa flavon atau flavonol membentuk senyawa kompleks yang stabil berwarna kuning [12]. Senyawa antrakuinon memberikan warna spesifik yaitu merah, ada yang berwarna kuning untuk derivat antrakuinon, senyawa antrakuinon akan menghasilkan warna violet merah dalam pelarut basa [13]. Senyawa fenol

memberikan hasil positif berwarna coklat ketika FeCl₃ yaitu gugus Fe bereaksi dengan gugus hidroksil yang terdapat pada senyawa fenol [14].

Studi menunjukkan senyawa fenolik seperti flavonoid mempunyai aktivitas antioksidan penangkap radikal [15, 16]. Flavonoid dapat berlaku sebagai antioksidan karena sifatnya sebagai akseptor yang baik terhadap radikal bebas, yaitu suatu spesies yang memiliki satu atau lebih elektron tak berpasangan dalam orbitalnya seperti hidroksi radikal dan superoksida yang biasa disebut sebagai ROS (*Reactive Oxygen Species*) [13]. Efek antioksidan senyawa flavonoid disebabkan oleh adanya penangkapan radikal bebas melalui donor proton hidrogen dari gugus hidroksil flavonoid. Aktivitas antioksidan pada flavonoid terutama dipengaruhi substitusi gugus hidroksi pada posisi orto dan para terhadap gugus OH dan OR [17].

Senyawa fenolik dapat berfungsi sebagai antioksidan karena dapat menyumbangkan atom hidrogen untuk menetralkan reaktivitas radikal bebas,. Mekanisme senyawa fenolik sebagai antioksidan yaitu melalui kemampuan gugus fenol untuk berpasangan dengan radikal bebas dengan cara mendonorkan atom hidrogennya melalui transfer electron, proses ini mengubah fenol menjadi radikal fenoksil. Radikal fenoksil ini dapat menstabilkan diri melalui proses resonansi sehingga tidak terjadi reaksi berantai pembentukan radikal dan radikal fenolik yang terbentuk akan distabilkan oleh delokalisasi elektron tidak berpasangan di seluruh cincin aromatiknya [18], [19].

Senyawa antrakuinon merupakan salah satu senyawa metabolit sekunder yang termasuk

golongan kuinon fenolik yang dalam biosintesisnya berasal dari turunan fenol yang memiliki fungsi sebagai antioksidan [20].

■ Kesimpulan

1. Aktivitas antioksidan dari ekstrak akar merung berada pada spot dengan rf 0,08 dan 0,66. Spot dengan rf 0,66 menunjukkan warna coklat saat direaksikan FeCl₃, berpendar kuning pada sinar UV 254 dan 366 nm setelah direaksikan AlCl₃ dan berwarna merah saat direaksikan dengan KOH.
2. Aktivitas antioksidan dari ekstrak batang merung berada pada rf 0,16, 0,33, 0,58, 0,66, dan 0,75. Spot dengan rf 0,16 menunjukkan warna coklat saat direaksikan FeCl₃ dan berpendar biru pada sinar UV 254 dan 366 nm setelah direaksikan AlCl₃.
3. Metabolit sekunder yang memiliki aktivitas antioksidan pada ekstrak akar dan batang diduga merupakan senyawa turunan fenolik dan senyawa turunan flavonoid.

■ Daftar Pustaka

- [1] Kusumowati, Ika Trisharyanti Dian, dkk, 2011, "Korelasi Kandungan Fenolik dan Aktivitas Antioksidan Daun Jambu Mete", *Jurnal Biomedika*. Vol. 3 No. 2
- [2] Karolina, A, Djihan, R, dan Erwin, 2018, "Uji Fitokimia dan Toksisitas Ekstrak Merung (*Coptosapelta tomentosa* (Blume))", Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Mulawarman, Samarinda
- [3] Aprilia, N, Widayat, W, dan Ramadhan, A, 2017, 'Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Akar Tumbuhan Merung (*Coptosapelta tomentosa*) Terhadap Bakteri *Streptococcus mutan*', Proceeding of the 6th Mulawarman Pharmaceuticals Conferences, Fakultas Farmasi Universitas Mulawarman, Samarinda.
- [4] Hermanda, R., Widayat, W, dan Rijai, L, 2016, 'Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Akar Tumbuhan Merung (*Coptosapelta tomentosa*) Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*', *Prosiding Seminar Nasional Kefarmasian IV*, Fakultas Farmasi Universitas Mulawarman, Samarinda.
- [5] Karolina, A, Djihan, R, dan Erwin, 2018, "Uji Fitokimia dan Toksisitas Ekstrak Merung (*Coptosapelta tomentosa* (Blume))", Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Mulawarman, Samarinda
- [6] Ferenczi-Fodor, K., Vegh, Z., and Renger, B., 2006, "Thin-layer Chromatography in Testing the Purity of Pharmaceuticals, TrAC Trends in Analytical Chemistry", Vol. 25 (8), 778-789.
- [7] Mudjirahmini, D., dan T, Ersam, 2006, "4-Fenilkumarin pada Fraksi Polar Ekstrak Etil Asetat dari Batang *Garcinia Balica* Miq", *Seminar Nasional Kimia VIII Surabaya, 8 Agustus 2006.*,1-9.
- [8] Wagner, H., Badt, S., Zginski, E.M., "Plant Drug Analysis A Thin Layer Chromatography Atlas", *Translated by Schoot, Spenger Verlag*, Tokyo, 1984.
- [9] Harborne, J., 1987, "Metode Fitokimia: Penuntun cara modern menganalisa tumbuhan. Terbitan Kedua", Terjemahan Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro. Bandung : ITB
- [10] Wali, M.; Haneda, N. F. dan Maryana, N., 2014, "Identifikasi Kandungan Kimia Bermanfaat pada Daun Jabon Merah dan Putih (*Anthocephalus* spp.)", *J. Silvikultur Tropika*, 5:77-83.
- [11] Prakash, A, 2001, A'ntioxidant Activity. Medallion Laboratories-Analytical Progress", Volume 19, Nomor 2, Hal 1-4
- [12] Chang, C. C., Yang, M. H., Wen, H. M., and Chern, J. C, 2002, "Estimation of Total Flavonoid Content in Propolis by Two Complementary Colorimetric Methods", *Journal of Food and Drug Analysis*, 10: 178-182.
- [13] T. Sathish kumar, M, Sampath, S, V, Sivachandran, S, Shanmugam and P, Rajasekaran, 2009, 'Optimal process for the extraction and identification of flavonoids from the leaves of *Polyalthia longifolia* using L16 Orthogonal design of experiment', *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 3(4): 736-745.
- [14] Susanti, N.M.P., Luh Putu MirahKusuma Dewi, Harlina Setiawati Manurung, I Made Agus Gelgel Wirasuta., "Indentifikasi Senyawa Golongan Fenol Dari Ekstrak Etanol Daun Sirih Hijau (*Piper Betle* Linn) Dengan Metode KLT-Spekro fotodensitometri", *Jurnal Metamorfosa*, 2017: 4(1): 108- 113.
- [15] Cos, P., Calomme, M., Sindambiwe, J.B., Bruyne, T.D., Cimanga, K., Pieters, L., Vlietinck, A.J., and Berghe, D.V., 2001, Cytotoxicity and Lipid Peroxidation-

- Inhibiting Activity of Flavonoids, *Planta Med.*, 67 : 515-519.
- [16] Gulcin, I., Uguz, M.T., Oktay, M., Beydemir, S., and Kufrevioglu, O.I., 2004, Evaluation of the Antioxidant and Antimicrobial Activities of Clary Sage (*Salvia sclarea* L.), *Turk I. Agric. For.*, 28: 25-33.
- [17] Amic D, Dusanka DA, Beslo D, Trinasjtic, 2003, 'Structure-radikal scavengingactivity relationship of flavonoids', *Croatia Chem Acta* 76:55-61.
- [18] Hasim, dkk, 2017, "Aktivitas Antioksidan Ekstrak Sulur Buah Naga Putih (*Hylocereus undatus*) dengan Metode DPPH dan Rancimat. *Jurnal Gizi Pangan*", Vol. 12 No. 3. ISSN 1978-1059.
- [19] Janeiro, P, and A.M.O. Brett, 2004, 'Catechin electrochemical oxidation mechanism', *Analytica Chimica Acta* 518 : 109-115.
- [20] Ariningsih, I.; Solichatun, dan Anggarwulan, E., 2003, "Pertumbuhan Kalus dan Produksi Antrakuinon Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) pada Media Murashige-Skoog (MS) dengan Penambahan Ion Ca^{2+} dan Cu^{2+} ", *J. Biof.*, 1: 39-43.