

## ISOLASI SENYAWA ANTIOKSIDAN DARI KULIT BATANG TUMBUHAN BINJAI (*Mangifera caesia*)

*Isolation of Antioxidant Compound from the Bark of Binjai (Mangifera caesia)*

**Kholifatu Rosyidah,\* Siska, Maria Dewi Astuti**

Program Studi Kimia Fakultas MIPA Universitas Lambung Mangkurat  
Jl. Jend. A. Yani Km 35,8 Banjarbaru 70714 Kalimantan Selatan  
e-mail : kholifatu@yahoo.co.id

### ABSTRAK

*Telah dilakukan isolasi senyawa antioksidan dari kulit batang tumbuhan binjai (M. caesia). Aktivitas antioksidan senyawa hasil isolasi memiliki nilai IC<sub>50</sub> sebesar 202,0 ppm yang lebih kecil dibandingkan dengan IC<sub>50</sub> vitamin C sebesar 3,7 ppm.*

Kata kunci: binjai, *M.caesia*, senyawa antioksidan, isolasi

### ABSTRACT

*In this study, we have successfully isolated an antioxidant compound from the bark of M. caesia. The antioxidant activity of the isolated compounds have IC<sub>50</sub> values of 202.0 ppm, smaller than the IC<sub>50</sub> of vitamin C , which is 3.7 ppm.*

Keyword: binjai, *M. caesia*, antioxidant, isolation

### PENDAHULUAN

Salah satu spesies *Mangifera* yang endemik di Kalimantan Selatan dan belum pernah diteliti kandungannya adalah *M. caesia* (binjai). Binjai adalah pohon sejenis mangga dengan bau harum yang menusuk dan rasa yang asam manis. Di dalam binjai terdapat kandungan kira-kira 65% dari keseluruhan buah binjai dapat dimakan. Binjai menyebar secara alami di Sumatera, Kalimantan dan Semenanjung Malaya, sebagian pakar meyakini Kalimantan adalah lokasi asal-usulnya.

Dari wilayah-wilayah ini, binjai dibawa dan dibudidayakan orang di Bali, Filipina dan Thailand, serta sebagian di Jawa (Kostermans and Bompard, 1993).

Tumbuhan dari genus *Mangifera* yang sudah banyak diteliti kandungannya adalah *M. indica* L (mangga). Rivera, *et al.*, (2008) menyebutkan bahwa senyawa yang diekstraksi dari batang mangga terdiri dari polifenol, triterpen, flavonoid, fitosterol, serta elemen-elemen kecil lainnya yang dapat berfungsi sebagai antiviral, antitumor, antidiabetes, dan

antioksidan. Mangga juga mengandung komponen senyawa polifenolat seperti mangiferin dari turunan senyawa santon, katekin dan epikatekin. Menurut Depkes (2007) biji, daun dan batang mangga mengandung flavonoid, sedangkan daun, dan kulit batang mengandung saponin serta biji dan kulit batangnya mengandung tanin. Metode isolasi tumbuhan binjai meliputi ekstraksi, partisi, fraksinasi dengan berbagai teknik kromatografi sehingga diperoleh senyawa murni. Senyawa hasil isolasi dilakukan uji aktivitas antioksidan.

## PROSEDUR PENELITIAN

### Ekstraksi, fraksinasi dan isolasi senyawa

Serbuk kasar kulit batang binjai (900 g) dimaserasi menggunakan pelarut metanol (3 x 24 jam). Ekstrak metanol dipekatkan dengan *rotary vacuum evaporator* bertekanan rendah hingga diperoleh ekstrak padat. Ekstrak padat dilakukan partisi dengan dua campuran pelarut yaitu metanol dan *n*-heksana. Sehingga diperoleh tiga fraksi, yaitu fraksi *n*-heksana, fraksi metanol (MeOH), dan fraksi saponin. Fraksi padat MeOH hasil partisi difraksinasi dengan metode KVC dengan eluen *n*-heksana yang ditingkatkan kepolarannya dengan etil asetat, sehingga dihasilkan beberapa fraksi gabungan

(dipantau dengan KLT). Salah satu fraksi dipisahkan lebih lanjut sehingga diperoleh fraksi dengan noda tunggal. Uji kemurnian komponen hasil pemisahan dilakukan dengan kromatografi lapis tipis sampai tampak satu noda pada minimal tiga eluen. Apabila kromatogram menunjukkan satu noda pada plat dengan berbagai eluen maka dapat dikatakan murni.

### Uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH

#### Uji Pendahuluan :

Senyawa hasil isolasi ditotolkan di atas plat KLT, kemudian kromatogram dikeringkan dan disemprot dengan larutan DPPH 1 mM dalam metanol. Setelah 30 menit kromatogram diamati, dimana senyawa yang aktif sebagai antioksidan menunjukkan noda kuning dengan latar ungu (Chaca, 2003; Conforti, 2002).

#### Penentuan Panjang Gelombang Maksimum ( $\lambda_{maks}$ ) DPPH:

Sebanyak 9 ml metanol p.a. ditambahkan ke dalam 1 ml larutan DPPH 1 mM, dikocok dengan kuat dan disimpan dalam ruang gelap selama 30 menit, kemudian diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Absorbans yang paling besar, dilihat panjang gelombangnya dan dijadikan panjang gelombang maksimum ( $\lambda_{maks}$ ).

### Penentuan Nilai IC<sub>50</sub>:

Senyawa hasil isolasi dilarutkan ke dalam metanol p.a. sehingga diperoleh beberapa variasi konsentrasi. Sebanyak 9 ml larutan senyawa hasil isolasi ditambahkan ke dalam 1 ml larutan DPPH 1 mM, dikocok dengan kuat dan disimpan dalam ruang gelap selama 30 menit, kemudian diukur absorbansnya menggunakan spektrofotometer UV-Vis (Vankar, 2006; Molyneux, 2004; Han, 2004). Nilai IC<sub>50</sub> dihitung dari interpolasi

pada grafik hubungan antara konsentrasi larutan uji dan daya antioksidan, kemudian dibandingkan dengan nilai IC<sub>50</sub> larutan standar vitamin C yang dihitung dari interpolasi pada grafik hubungan antara konsentrasi vitamin C dan daya antioksidan. Nilai IC<sub>50</sub> merupakan konsentrasi penghambatan 50% terhadap radikal bebas DPPH dari senyawa murni hasil isolasi. Besarnya daya antioksidan dihitung dengan rumus pada persamaan 1.

$$\text{Daya antioksidan} = \frac{\text{Absorbans kontrol} - \text{Absorbans sampel}}{\text{Absorbans kontrol}} \times 100\% \dots\dots\dots(1)$$

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

Sebanyak 900 gram serbuk kasar kulit batang binjai dimaserasi dengan 1,8 L metanol selama 24 jam, kemudian ekstrak yang diperoleh disaring dan dipisahkan dari endapannya (filtrat I). Maserasi dilakukan sebanyak 3 kali. Filtrat yang diperoleh digabungkan dan dipekatkan dengan *rotary vacum evaporator* hingga diperoleh 148,18 gram ekstrak metanol kering yang berwarna coklat tua.

Ekstrak metanol kering yang diperoleh dari hasil evaporasi dilarutkan ke dalam 300 ml metanol, kemudian dimasukkan ke dalam corong pisah 500 ml. Selanjutnya dipartisi dengan pelarut yang berbeda kepolarannya. Pelarut yang digunakan

untuk partisi pada penelitian ini adalah metanol dan *n*-heksana. Partisi memberikan hasil berupa 3 lapisan yaitu lapisan atas berupa fraksi *n*-heksana, lapisan tengah berupa fraksi metanol, dan fraksi bawah berupa padatan. Fraksi metanol dipisahkan dari fraksi *n*-heksana dan fraksi padat, kemudian dipekatkan dengan *rotary vacum evaporator* hingga diperoleh fraksi metanol kering sebesar 15,6031 gram.

Berdasarkan pola kromatogram KLT diketahui bahwa eluen yang menghasilkan pemisahan yang terbaik adalah *n*-heksana dengan etil asetat (1:9). Selanjutnya fraksi metanol dipisahkan dengan cara KVC. Semua fraksi metanol

dibuat impreg dengan dilarutkan ke dalam 15 ml metanol, kemudian diteteskan ke dalam 30 gram silika gel 60 diaduk sampai homogen dan kering. Impreg dimasukkan ke dalam kolom KVC dengan diameter kolom = 7 cm, tinggi silika = 5,5 cm, dan berat silika = 100 gram, kemudian diratakan. Elusi diawali dengan pelarut non polar yaitu *n*-heksana sebanyak 50 ml kemudian dihisap dengan pompa vakum. Elusi dilanjutkan dengan polaritas meningkat mulai dari campuran *n*-heksana dengan etil asetat, kemudian etil asetat. Masing-masing eluen dimasukkan ke dalam kolom secara perlahan-lahan, kemudian dihisap dengan pompa vakum. Fraksi-fraksi yang dihasilkan kemudian ditampung dalam vial sehingga diperoleh 55 fraksi. Semua fraksi hasil pemisahan dengan cara KVC dipantau dengan KLT menggunakan eluen *n*-heksana : etil asetat (3:7). Penggabungan fraksi didasarkan pada pola noda yang sama pada kromatogram dan diperoleh 4 fraksi (A,B,C,D). Fraksi A memiliki massa sebesar 0,4870 gram, fraksi B memiliki massa 0,0687 gram, fraksi C memiliki massa 1,4500 gram dan fraksi D sebanyak massa 0,1915 gram.

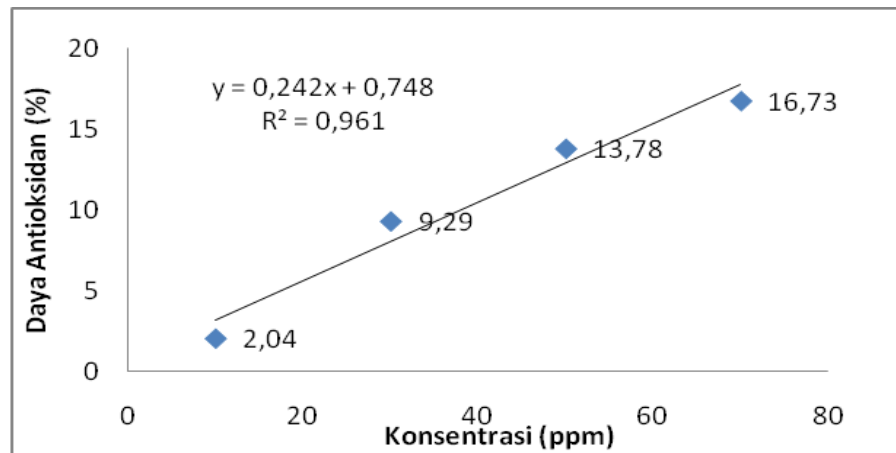
Fraksi A terlihat memiliki pola yang sederhana, sehingga dilanjutkan pemisahan dengan KVC. Fraksi A dibuat impreg dengan cara dilarutkan dalam 2 ml

*n*-heksana, kemudian diteteskan ke dalam 2 gram silika gel 60 diaduk sampai homogen dan kering. Impreg dimasukkan ke dalam kolom KVC berdiameter 2 cm kemudian diratakan. Elusi diawali dengan pelarut non polar yaitu *n*-heksana sebanyak 20 ml kemudian dihisap dengan pompa vakum. Elusi dilanjutkan dengan kombinasi pelarut dengan polaritas meningkat yaitu campuran *n*-heksana dengan MTC, MTC, campuran MTC dengan etil asetat, etil asetat, campuran etil asetat dengan metanol, dan metanol, sehingga diperoleh 35 fraksi. Semua fraksi diamati dengan KLT dan berdasarkan kromatogram KLT, vial 16-19 menunjukkan noda tunggal. Vial 16-19 digabung selanjutnya dilakukan uji kemurnian dengan menggunakan KLT dengan tiga sistem eluen yang berbeda, yaitu MTC : *n*-heksana (7:3), *n*-heksana:etilasetat (7:3) dan MTC:kloroform (3:7). Berdasarkan pola kromatogram, fraksi gabungan menunjukkan noda tunggal, sehingga dapat dikatakan fraksi gabungan ini merupakan senyawa murni. Selanjutnya fraksi gabungan 16-19 ini disebut sebagai senyawa hasil isolasi dengan massa 49,1 mg, berupa padatan berwarna kuning.

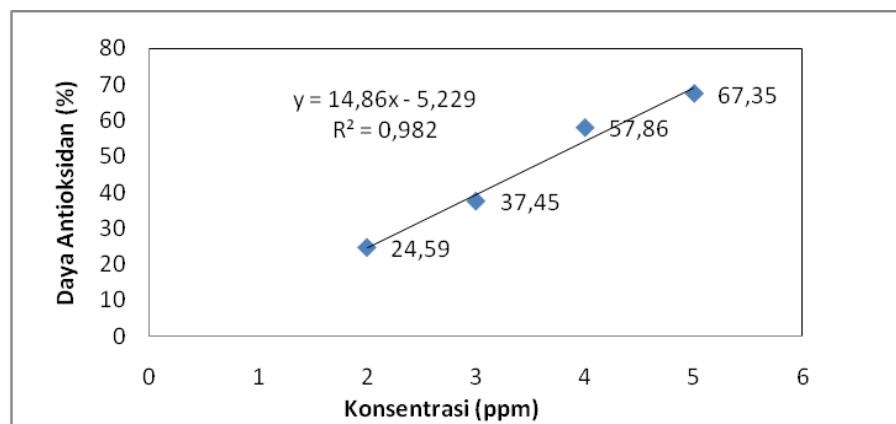
### **Uji Aktivitas Antioksidan**

Uji pendahuluan digunakan untuk mengetahui apakah senyawa hasil isolasi memiliki aktivitas antioksidan. Menurut Chaca (2003), senyawa aktif sebagai antioksidan, apabila senyawa tersebut ditetesi larutan DPPH menunjukkan noda kuning dengan latar ungu. Berdasarkan hasil uji pendahuluan senyawa hasil isolasi positif bersifat antioksidan, yang ditandai dengan timbulnya warna kuning berlatar ungu.

Senyawa hasil isolasi menunjukkan hasil positif pada uji pendahuluan sehingga dilanjutkan penentuan aktivitas antioksidan dengan spektrofotometer UV-Vis. Senyawa hasil isolasi dibuat menjadi larutan dengan konsentrasi 10, 30, 50, dan 70 ppm. Larutan senyawa diukur absorbansnya pada  $\lambda_{maks}$  516 nm. Menurut Darmanto (2005), kemampuan suatu senyawa sebagai antioksidan, dinyatakan dengan  $IC_{50}$  pada konsentrasi kurang dari 1000 ppm.



**Gambar 1.** Grafik Hubungan Konsentrasi dengan Daya Antioksidan Senyawa



**Gambar 2.** Grafik Hubungan Konsentrasi dengan Daya Antioksidan Vitamin C

Berdasarkan grafik pada Gambar 1 didapatkan nilai  $IC_{50}$  senyawa hasil isolasi sebesar 202 ppm. Menurut Darmanto (2005), senyawa ini dapat dikatakan aktif sebagai antioksidan dan memerlukan konsentrasi sebesar 202 ppm untuk mampu meredam 50% radikal bebas.

Grafik pada Gambar 2 menunjukkan daya antioksidan vitamin C mempunyai nilai  $IC_{50}$  sebesar 3,7 ppm. Jika dibandingkan dengan  $IC_{50}$  vitamin C, maka senyawa hasil isolasi kurang aktif sebagai antioksidan. Vitamin C memiliki aktivitas antioksidan yang cukup tinggi karena vitamin C memiliki 4 gugus hidroksil. Menurut May (1999) vitamin C sebagai antioksidan dapat memberikan satu atau dua elektronnya untuk menstabilkan radikal bebas.

Pada *Mangifera indica* L. yang berasal dari Brazil dilaporkan banyak mengandung senyawa golongan flavonol dan glikosida santon misalnya mangiferin, isomangiferin, isomangiferin gallat, quersetin dan turunannya yang bersifat antioksidan (Ribeiro, *et al.*, 2008). Pada binjai juga telah dilaporkan terdapat senyawa golongan alkilfenol yang bersifat antioksidan diantaranya alkenilfenol dengan C23:1 sebagai rantai samping dan asam alkenilsalisilat dengan rantai

samping C23:2, C25:2, and C25:1 yang belum pernah dilaporkan dari tumbuhan lain (Masuda, *et al.*, 2002).

## KESIMPULAN

Senyawa hasil isolasi dari kulit batang binjai bersifat aktif antioksidan. Aktivitas antioksidan senyawa hasil isolasi memiliki nilai  $IC_{50}$  sebesar 202 ppm yang lebih kecil dibandingkan dengan  $IC_{50}$  vitamin C sebesar 3,7 ppm.

## DAFTAR PUSTAKA

- Chacha, M., Moleta, G.B., Majinda, R.R.T. 2003. *Antimicrobial and Radical Scavenging Flavonoids from the Stem Wood of Erythrina latissima*. *Phytochemistry*, 66, 99-104
- Darmanto, W. 2005. Pemanfaatan Polysaccharide Krestine (PSK) Dalam Menurunkan Radikal Bebas Pada Darah Mencit Akibat Induksi 2-Methoxyethanol. *Jurnal ILMU DASAR Vol. 6 No. 2, 2005* : 96-102
- Depkes. 2007. *Mangifera indica* L. [http://www.warintek.ristek.go.id/pangan\\_ke\\_sehatan/tanaman\\_obat/depkes](http://www.warintek.ristek.go.id/pangan_ke_sehatan/tanaman_obat/depkes)
- Kostermans, A.J.G.H & J.M. Bompard. 1993. *The Mangoes. Their Botany, Nomenclature, Horticulture and Utilization*. Academic Press Harcourt Brace & Company, London.
- May, J. M. 1999. In Ascorbic Acid An Antioxidant For The Plasma Membrane. *Faseb Journal*. Vol. 13. Hal. 995-1006.

Masuda, D., T. Koyano, H. Fujimoto, E. Okuyama, M. Hayashi, K. Komiyama, M. Ishibashi, 2002, Alkenylphenol and alkenylsalicylic acid from *Mangifera caesia*, *Biochemical Systematics and Ecology*, 30, 475–478

Ribeiro, S.M.R., L.C.A. Barbosa, J.H. Queiroz, M. Kno“ dler, A. Schieber, 2008, Phenolic compounds and antioxidant capacity of Brazilian mango (*Mangifera indica* L.) varieties *Food Chemistry*, 110, 620–626

Rivera, D. G., Hernández, R. D., Ubeira, F. M., José. M., Vidal. L. 2008. *Immunomodulator effect of the vimang and mangiferina in the immune humoral response to the spores of a microsporidian parasite*. Department of Parasitology. Faculty of Pharmacy. University of Santiago de Compostela. Spain.