

Isolasi dan Identifikasi Senyawa Antioksidan dari Ekstrak Benalu Teh (*Scurrula oortiana* (Korth) Danser)

PARTOMUAN SIMANJUNTAK^{1*}, TITI PARWATI¹, LISYA EVY LENNY²,
SWASONO R. TAMAT², RETNO MURWANI³

¹Pusat Penelitian Bioteknologi LIPI,
Jalan Raya Bogor Km. 46, Cibinong 16911

²Fakultas Farmasi Universitas Pancasila,

Srengseng Sawah Jagakarsa, Jakarta Selatan, 12640

³Laboratorium Biokimia Nutrisi, Fakultas Peternakan,
Universitas Diponegoro, Semarang 50249

Diterima 9 Januari 2004, 8 Maret 2004

Abstract: The leaves of tea benalu (*Scurrula oortiana* (Korth) Danser) were extracted with *n*-hexane, ethyl acetate, methanol, and water respectively. The antioxidant activities were measured using 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) methods. The result showed that the isolated compound has scavenging effect with IC₅₀ 92.22 ppm. Identification by interpretation of ultraviolet, infrared, and nuclear magnetic resonance spectra showed that the isolated compound was catechin.

Key words: tea benalu, *Scurrula oortiana*, DPPH, antioxidant, catechin

PENDAHULUAN

Indonesia adalah negara yang kaya akan sumber daya alam. Salah satunya adalah bermacam jenis tanaman yang sangat bermanfaat baik dalam bidang pangan maupun bidang kesehatan. Tanaman tersebut dapat digunakan sebagai obat dalam fitoterapi dan diharapkan dapat dimanfaatkan dalam pelayanan kesehatan formal. Dalam jangka panjang, diharapkan obat tersebut mempunyai arti ekonomi yang potensial karena menurunkan penggunaan obat sintetik. Bahan baku obat tersebut sebagian besar masih diimpor dari luar negeri. Pada sisi lain, dengan sumber daya alam yang tersedia, dapat dilakukan perekayasa menggunakan teknologi yang tepat sehingga menghasilkan nilai tambah yang lebih besar dan dapat bermanfaat bagi rakyat banyak⁽¹⁾.

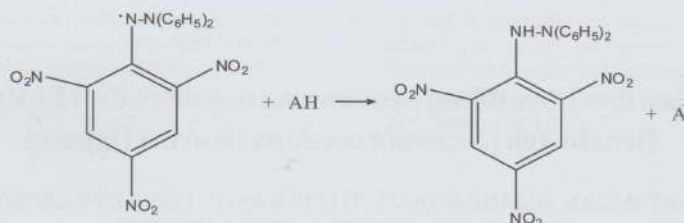
Dari sekian banyak tanaman obat yang ada, benalu teh termasuk tanaman yang menarik untuk diteliti lebih lanjut. Benalu adalah nama kelompok tanaman yang tumbuh liar, melekat, dan merupakan parasit pada pohon lain. Karena tumbuh pada pohon lain, seringkali diberi nama tambahan sesuai dengan nama inangnya, seperti benalu teh. Beberapa jenis benalu banyak digunakan secara tradisional untuk

pengobatan alternatif terhadap kanker. Efek antimutagen dan antikanker pada tanaman tersebut diduga karena adanya kandungan senyawa antioksidan^(2,3). Antioksidan adalah suatu senyawa yang dapat menetralkan dan melawan bahan toksik (radikal bebas) dan menghambat terjadinya oksidasi pada sel sehingga mengurangi terjadinya kerusakan sel.

Radikal bebas adalah atom atau molekul yang mengandung satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan pada orbital luarnya. Hal ini mengakibatkan tidak stabilnya atom atau molekul tersebut. Agar menjadi stabil, radikal memerlukan elektron yang berasal dari pasangan elektron di sekitarnya. Kemudian akan terjadiperdahan elektron dari molekul donor ke molekul radikal untuk menstabilkan radikal tersebut. Akibat reaksi tersebut, molekul donor menjadi radikal baru yang tidak stabil dan memerlukan elektron dari molekul di sekitarnya untuk menjadi stabil. Demikian seterusnya sehingga terjadi reaksi rantai perpindahan elektron-elektron⁽⁴⁾.

Banyak penelitian tentang peredaman radikal bebas yang dilakukan di laboratorium, seperti peredaman radikal superoksida (O₂[•]) dengan menggunakan nitro biru tetrazolium (NBT), peredaman radikal hidrogen peroksida dengan dapar garam fosfat (PBS), dan peredaman radikal hidroksil dengan menggunakan 5,5-dimetil-pirolin-N-oksida

* Penulis korespondensi, Hp.0811975725,
e-mail: tomujtk@indo.net.id



Gambar 1. Reaksi peredaman radikal bebas dengan 1,2-difenil-2-pikrilhidrazil dengan senyawa antioksidan

(DMPO) atau 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH)⁽⁵⁾.

Pada penelitian ini, dilakukan peredaman radikal terhadap hasil ekstraksi dengan beberapa sistem pelarut dari benalu teh (*Scurrula oortiana*) dengan metode DPPH. Reaksi peredaman radikal bebas dengan 1,2-difenil-2-pikrilhidrazil dengan senyawa antioksidan disajikan pada Gambar 1.

BAHAN DAN METODE

BAHAN. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun kering benalu teh (*Scurrula oortiana* (Korth) Danser) yang diperoleh dari perkebunan teh PTP Rancabali, Cibuni, Bandung dan dideterminasi di Herbarium Bogoriense, Pusat Penelitian Biologi, LIPI Bogor. Bahan kimia *n*-heksan, etil asetat, metanol, kloroform, air, 1,2-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH), baku pembanding katekin. Fase diam sephadex LH-20.

METODE. Ekstraksi, isolasi, dan identifikasi. Ekstraksi dilakukan secara bertingkat berdasarkan sifat kepolaran pelarut (*n*-heksan, etil asetat, metanol, dan air). Keempat ekstrak tersebut kemudian dipekatkan dengan penguap berputar. Pengujian aktivitas peredaman radikal bebas terhadap keempat ekstrak dilakukan dengan menggunakan DPPH.

Pada ekstrak yang paling aktif, yaitu ekstrak metanol, dilakukan kromatografi kolom dengan sephadex LH-20 dengan fase gerak kloroform-metanol (10:1). Fraksi yang mempunyai aksi

peredaman yang paling tinggi, yaitu fraksi II, kemudian dianalisis dengan kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT)⁽⁶⁾. Identifikasi struktur kimia senyawa hasil isolasi dilakukan dengan spektrometri ultra violet, infra merah, dan resonansi magnet inti proton dan karbon.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi. Ekstraksi terhadap daun benalu teh yang dilakukan secara bertingkat menghasilkan ekstrak *n*-heksan, ekstrak etil asetat, ekstrak metanol, dan ekstrak air berturut-turut sebanyak 8,47 g, 18,71 g, 7,38 g, dan 32,86 g. Prosentase ekstrak dari berat kering simplisia pada ekstrak air mencapai 6,57% sedangkan pada ekstrak *n*-heksan, etil asetat, dan metanol berturut-turut hanya mencapai 1,69%, 3,74%, dan 1,48% (Tabel 1). Dari hasil tersebut dapat diperkirakan bahwa benalu teh lebih banyak mengandung senyawa-senyawa polar.

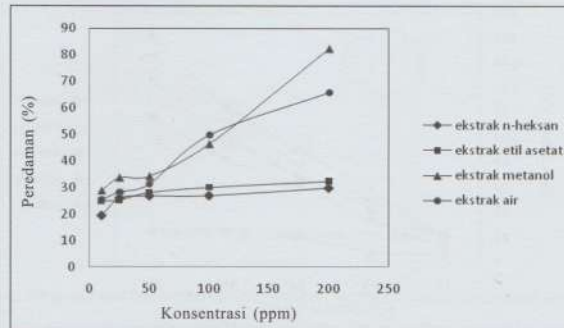
Uji aktivitas dengan metode DPPH terhadap ekstrak yang dihasilkan. Hasil pengujian semua ekstrak dengan menggunakan reaksi DPPH disajikan pada (Tabel 2 dan Gambar 2). Dari hasil pengujian tersebut diketahui bahwa ekstrak metanol memiliki aktivitas peredaman radikal bebas yang paling besar, yaitu 93,59 ppm. Dari data ini dapat diperkirakan bahwa senyawa yang bersifat relatif polar memiliki aktivitas yang lebih tinggi.

Fraksionasi dengan kromatografi kolom. Pemisahan ekstrak metanol dengan kromatografi

Tabel 1. Hasil ekstraksi 500 g sampel yang dilakukan tiga kali

No.	Ekstrak	Bobot Ekstrak (g)	Prosentase* (%)
1	<i>n</i> -heksan	8,47	1,69
2	etil asetat	18,71	3,74
3	metanol	7,38	1,48
4	air	32,86	6,57

Keterangan: * = dihitung dari berat kering simplisia



Gambar 2. Grafik hasil uji antioksidan terhadap beberapa ekstrak benalu teh dengan metode DPPH.

Tabel 2. Hasil uji aktivitas menggunakan DPPH pada ekstrak *n*-heksan, etil asetat, methanol, dan air daun benalu teh

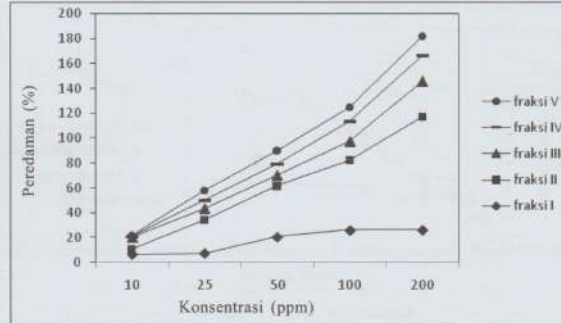
Ekstrak	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi		Peredaman (%)	IC ₅₀ (ppm)
		Sampel	Blanko		
<i>n</i> -heksan	10	0,4680	0,6468	19,48	698,68
	25	0,4833		26,14	
	50	0,4649		26,93	
	100	0,4518		27,07	
	200	0,4365		29,95	
etil asetat	10	0,4680	0,6268	24,86	617,03
	25	0,4833		25,28	
	50	0,4649		28,12	
	100	0,4518		30,15	
	200	0,4365		32,51	
metanol	10	0,4587	0,6468	29,07	93,59
	25	0,4271		33,96	
	50	0,4237		34,49	
	100	0,3440		46,62	
	200	0,1131		82,52	
air	10	0,4823	0,6468	25,43	121,17
	25	0,4638		28,29	
	50	0,4439		31,36	
	100	0,3240		49,91	
	200	0,2202		65,96	

kolom menggunakan fase diam sephadex LH 20 dan fase gerak kloroform-metanol (10:1) menghasilkan 5 fraksi. Analisis DPPH menunjukkan bahwa fraksi II mempunyai daya peredaman terbesar, 92,22 ppm, sedikit lebih rendah dari ekstrak metanolnya (Tabel 3 dan Gambar 3).

Analisis kromatografi cair kinerja tinggi terhadap fraksi II. KCKT dilakukan dengan meng-

gunakan senyawa katekin sebagai baku pembanding. Dari analisis KCKT terhadap senyawa fraksi II, diperoleh kromatogram yang menunjukkan bahwa senyawa isolat memiliki waktu retensi yang hampir sama dengan dengan baku pembanding pada menit ke-12,32.

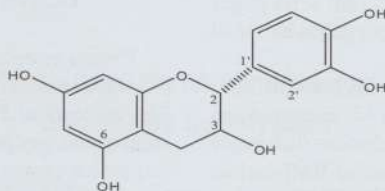
Identifikasi senyawa isolat dengan spektrometri. Serapan pada spektrofotometri ultra-



Gambar 3. Grafik hasil uji antioksidan terhadap fraksi I, II, III, IV, dan V benalu teh dengan DPPH.

Tabel 3. Hasil uji aktivitas menggunakan DPPH pada fraksi I, II, III, IV, dan V

Ekstrak	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi		Peredaman (%)	IC ₅₀ (ppm)
		Sampel	Blanko		
Fraksi I	10	0,6141	0,6581	6,69	389,93
	25	0,6087		7,51	
	50	0,5219		20,70	
	100	0,4860		26,15	
	200	0,4845		26,38	
Fraksi II	10	0,6237	0,6581	3,86	92,22
	25	0,4830		26,61	
	50	0,3877		41,09	
	100	0,2872		56,36	
	200	0,0608		90,76	
Fraksi III	10	0,5924	0,6581	9,98	416,75
	25	0,5962		9,41	
	50	0,6002		8,79	
	100	0,5597		14,95	
	200	0,4695		28,66	
Fraksi IV	10	0,6563	0,6581	0,27	480,22
	25	0,6150		6,55	
	50	0,6009		8,69	
	100	0,5523		16,08	
	200	0,5224		20,62	
Fraksi V	10	0,6526	0,6581	0,84	764,56
	25	0,6080		7,61	
	50	0,5885		10,58	
	100	0,5850		11,11	
	200	0,5572		15,33	



Gambar 4. Struktur senyawa katekin.

Tabel 4. Pergeseran kimia proton dan karbon senyawa isolat dari daun benalu teh

No.	Proton (NMR 500 MHz, CD ₃ OD), <i>J</i> (hertz)	Karbon (NMR 125 MHz, CD ₃ OD)
1	-	-
2	4,57 (d, <i>J</i> = 8,0)	82,84
3	3,98 (s)	68,81
4	2,54 (d, <i>J</i> = 8,0; 16,0); 2,83 (d, <i>J</i> = 5,5; 16,0)	28,53
5	-	96,29
6	-	157,57
7	5,91 (s)	95,50
8	-	157,80
9	5,84 (s)	156,90
10	-	100,82
1'	-	132,18
2'	6,74 (s)	115,26
3'	-	146,22
4'	-	146,25
5'	6,82 (d, <i>J</i> = 2,0)	116,10
6'	6,71 (d, <i>J</i> = 2,0)	120,07

Tabel 5. Hasil uji aktivitas menggunakan DPPH pada senyawa isolat katekin

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi		Peredaman (%)	IC ₅₀ (ppm)
	Sampel	Blanko		
10	0,4982	0,6246	20,24	81,77
25	0,4346		30,42	
50	0,3725		40,36	
100	0,2481		60,28	
200	0,0614		90,17	

violet senyawa isolat menunjukkan adanya gugus kromofor ikatan rangkap terkonjugasi (aromatik) pada panjang gelombang 356 nm dan 232 nm. Hasil identifikasi dengan infra merah memberikan serapan pada bilangan gelombang 3267 cm⁻¹ yang karakteristik untuk gugus hidroksil. Dari kedua

spektra ini, dapat diperkirakan bahwa senyawa isolat merupakan senyawa aromatik yang tersubstitusi gugus hidroksil.

Hasil pengukuran senyawa isolat murni terhadap resonansi magnet inti proton menunjukkan bahwa terdapat sinyal-sinyal untuk gugus metilena (-CH₂-)

pada δ H 2,54 (dd) dan δ H 2,83 (dd) serta gugus metin yang berada geminal dengan gugus hidroksil pada δ H 3,98 (dq).

Adanya sinyal proton pada δ H 5,85 (d), 5,93 (d), 6,71 (d), 6,77 (d), dan 6,84 (d) menunjukkan adanya 2 cincin benzen yang tersubstitusi oleh gugus hidroksil. Hasil penyidikan terhadap RMI karbon menunjukkan keberadaan 15 atom karbon yang terdiri dari 1 gugus metilena, 2 gugus metin yang mempunyai ikatan tunggal, 5 gugus metin yang mempunyai ikatan rangkap 2 (aromatik), dan 7 atom karbon kuartener. Pergeseran kimia proton dan karbon disajikan pada Tabel 4.

Dari hasil interpretasi data spektra senyawa isolat dengan spektroskopi ultra violet, infra merah, RMI proton dan karbon, dapat disimpulkan bahwa senyawa isolat tersebut adalah katekin (Gambar 4) dengan aktivitas peredaman terhadap DPPH sebesar 81,77 ppm. Aktivitas ini lebih besar jika dibandingkan dengan aktivitas vitamin C dengan metode yang sama, yaitu 65,51 ppm.

SIMPULAN

Dari hasil penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa senyawa yang mempunyai daya aktivitas sebagai antioksidan adalah senyawa katekin dengan aktivitas peredaman terhadap DPPH sebesar 81,77 ppm.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Prof. Hirotaka Shibuya, *Faculty of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, Fukuyama University*, Jepang atas pengambilan data spektra resonansi magnet inti proton dan karbon.

DAFTAR PUSTAKA

1. Soedibyo M. Alam sumber kesehatan: manfaat dan kegunaan. Jakarta: Penerbit Balai Pustaka; 1997. hal. 89.
2. Chozin A, Wahjoedi B, Pudjiastuti. Informasi penelitian botani dan fitokimia tanaman benalu. *Warta Tumbuhan Obat Indonesia*. 1998;4:1-4.
3. Windadri FI, Rahayu JS. Keanekaragaman jenis benalu di pulau jawa. *Warta Tumbuhan Obat Indonesia*. 1998;4:25-29.
4. Windono T, Soediman S, Yudawati U, Ermawati E, Srielita E. Uji peredaman radikal bebas terhadap 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil dari ekstrak kulit buah dan biji anggur (*Vitis vinera L.*) Probolinggo Biru dan Bali. *Artocarpus*. 2001;1:38-39.
5. Yen GC, Chen H. Antioxidant activity of various tea extract in relation to their antimutagenicity. *J Agric Chem*. 1995;43:27-32.
6. Tambunan RM, Bustanussalam, Simanjuntak P, Murwani R. Isolasi dan identifikasi kafein dalam ekstrak air benalu teh *Scurrula junghunii* Loranthaceae. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. 2003;1(2):16-18.