

ISOLASI ANTIOKSIDAN TUMBUHAN SARANG SEMUT (*Myrmecodia pendens* Merr & Perry) ASAL PAPUA

Islamudin Ahmad¹⁾ dan Risna Lestari²⁾

Laboratorium Kimia Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Mulawarman, Kampus UNMUL Gn. Kelua,
Samarinda, Kalimantan Timur
email : islamudinahmad@yahoo.com¹⁾
Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Makassar, Sulawesi Selatan²⁾

ABSTRACT

Research about active antioxidant compounds isolated from plants ant nests (*Myrmecodia pendens* Merr. & Perry) from Papua by the method of column chromatography has been done. This study aimed to explore the isolation of the active class of compounds as antioxidants from ant nest plant. Isolates obtained using the method of column chromatography and antioxidant activity of the ant nest plants isolates tested used spraying method with free radical DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) after eluted on thin-layer chromatography. At separation by column chromatography, eluate collected in vials with a volume of 10 ml. Based on the results of fractionation, separation of the components obtained by 74 vials. Identification using TLC by determining the R_f value of each component. The same R_f value is considered as a single fraction. Based on the results obtained seven fractions TLC. Active isolates (F₆) obtained by spraying. The results of fraction of spot with DPPH staining showed that the isolates was considered the most active isolates as seen from the formation of a yellow color that is lighter and more dominant than the other fractions, this indicates that the fraction (F₆) binds more free radicals (DPPH).

Key words: antioxidant, isolates, *Myrmecodia pendens* Merr & Perry, DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl).

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian isolasi senyawa aktif antioksidan dari tumbuhan sarang semut (*Myrmecodia pendens* Merr. & Perry) asal Papua dengan metode kromatografi kolom. Penelitian ini bertujuan untuk mencari isolat golongan senyawa yang aktif sebagai antioksidan dari tumbuhan sarang semut. Isolat diperoleh dengan menggunakan metode kromatografi kolom dan aktivitas antioksidan isolate sarang semut diuji menggunakan metode penyemprotan dengan radikal bebas DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) setelah dielusi pada kromatografi lapis tipis. Pada pemisahan dengan kromatografi kolom, eluat ditampung dalam vial dengan volume 10 ml. Berdasarkan hasil fraksinasi, diperoleh komponen hasil pemisahan sebanyak 74 vial. Identifikasi menggunakan KLT dengan cara menentukan nilai R_f masing-masing komponen. Nilai R_f yang sama dianggap sebagai satu fraksi. Berdasarkan hasil KLT di dapatkan 7 fraksi. Isolat aktif (F₆) yang diperoleh dengan penyemprotan. Hasil pewarnaan spot fraksi dengan DPPH menunjukkan bahwa isolat yang dianggap paling aktif adalah isolat yang dilihat dari terbentuknya warna kuning yang lebih terang dan lebih dominan dibanding fraksi yang lainnya, ini menandakan bahwa fraksi (F₆) lebih banyak mengikat radikal bebas (DPPH).

Kata kunci: antioksidan, isolat, *Myrmecodia pendens* Merr & Perry, DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl).

PENDAHULUAN

Penelitian dan pengembangan tumbuhan obat, baik di dalam maupun di luar negeri berkembang pesat. Penelitian yang berkembang, terutama pada segi farmakologi maupun fitokimianya berdasarkan indikasi tumbuhan obat yang telah digunakan oleh sebagian masyarakat dengan khasiat yang teruji secara empiris. Hasil penelitian tersebut, tentunya lebih memantapkan para pengguna tumbuhan obat akan khasiat, maupun penggunaannya [1].

Isolasi merupakan proses atau cara untuk menarik dan memisahkan kandungan kimia dari tumbuhan dengan menggunakan pelarut tertentu hingga menjadi fraksi-fraksi atau isolat-isolat [2].

Antioksidan merupakan senyawa penting dalam menjaga kesehatan tubuh karena berfungsi sebagai penangkap radikal bebas yang banyak terbentuk di dalam tubuh [3]. Secara alami beberapa jenis tumbuhan merupakan sumber antioksidan, hal ini dapat ditemukan pada beberapa jenis sayuran, buah-buahan segar, beberapa jenis tumbuhan dan rempah-rempah yang umumnya mengandung senyawa fenolik [4, 5].

Salah satu tanaman yang menarik diteliti sebagai salah satu sumber komponen aktif antioksidan yaitu tanaman sarang semut (*Myrmecodia pendens* Merr. & Perry). Tanaman sarang semut adalah satu dari banyak tumbuhan obat yang banyak tumbuh di daerah Indonesia paling barat, Papua (Irian).

Tumbuhan sarang semut adalah jenis tumbuhan epifit, tumbuh di cabang dan batang pohon lain yang lebih besar, namun tidak hidup secara parasit yang menghisap makanan dari inangnya, tetapi hanya

sebagai tempat menempel, menumpang untuk tumbuh [6].

M. Ahkam Subroto, ahli peneliti utama LIPI mengungkapkan bahwa senyawa aktif yang terkandung dalam tanaman sarang semut adalah flavonoid, tanin dan polifenol yang berfungsi sebagai antioksidan dalam tubuh. Selain itu dalam sarang semut juga ditemukan kandungan bermanfaat lainnya, seperti tokoferol, magnesium, kalsium, besi, fosfor, natrium dan seng. Dilihat dari kandungannya, maka sarang semut menurut penelitian dapat mengatasi serangan kanker. Beberapa penelitian dalam uji in vitro, terbukti bahwa sarang semut ampuh mengatasi sel kanker [7,8].

Analisis antioksidan dari ekstrak kasar tumbuhan sarang semut dengan menggunakan metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) menunjukkan bahwa ekstrak tersebut memiliki aktivitas antioksidan sedang, yaitu diperoleh nilai IC₅₀ sebesar 48,6 ppm. Sementara alfatokoferol yang merupakan antioksidan kuat dengan nilai IC₅₀ diperoleh angka sebesar 5,1 ppm [9].

Berdasarkan latar belakang tersebut maka rumusan masalah yang timbul adalah apakah dapat dilakukan isolasi senyawa aktif sebagai antioksidan dengan menggunakan metode kromatografi lapis tipis.

Tujuan dari penelitian ini yaitu mencari isolat aktif dari tumbuhan sarang semut (*Myrmecodia pendens* Merr. & Perry) asal Papua.

Manfaat penelitian ini antara lain, sebagai sumber informasi ilmiah mengenai cara fraksinasi dan isolasi serta uji aktivitas antioksidan tumbuhan sarang semut dan sebagai referensi dalam melakukan penelitian selanjutnya.

METODE

Alat yang digunakan yaitu alat maserasi, kapas, alat rotavapor, seperangkat alat gelas, Lampu UV 254 dan 366 nm, seperangkat alat kromatografi lapis tipis dan kromatografi kolom, spektrofotometri UV-Vis.

Bahan yang digunakan yaitu tanaman sarang semut (*Myrmecodia pendens* Merr. & Perry), etanol 70%, etanol absolut, *n*-heksan, etil asetat, air (aquadest), vitamin C, silika gel GF 254, silika gel 40, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH).

Ekstraksi dan Partisi

Setelah sampel sarang semut dibuat menjadi simplisia, sampel ditimbang sebanyak 300 g kemudian diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 70% selama 3 x 24 jam dengan sesekali pengadukan tiap 1 x 24 jam. Kemudian sampel di saring dan diambil ekstraknya kemudian diuapkan. Ekstrak sarang semut di partisi menggunakan pelarut etil asetat dan air dengan perbandingan 3:1.

Isolasi

Ekstrak etil asetat di isolasi dengan menggunakan kromatografi kolom. Kolom yang digunakan adalah asam silika aktif (Kiesel Gel 40). Eluen yang digunakan adalah kombinasi pelarut *n*-heksan (H) dan pelarut etil asetat (E) dengan perbandingan volume 5:1, 4:1, 3:1, 2:1, 1:1 dan 0:1.

Fraksinasi dilakukan dengan mengelusi ekstrak menggunakan kombinasi pelarut di atas secara bertahap (*gradien elution*). Hingga diperoleh 74 fraksi.

KLT dan penyemprotan

Dari hasil fraksinasi yang diperoleh, ditotol 2 fraksi dari setiap perbandingan eluen pada lempeng KLT, lalu pengamatan noda yang sama. Noda yang sama kemudian digabung menjadi 7 fraksi lalu ditotol kembali pada lempeng KLT dan dilakukan penyemprotan dengan larutan DPPH 0,04%.

HASIL

Pengumpulan fraksi dengan noda yang sama

Tabel 1. Nilai Rf Fraksi

Fraksi	Nilai Rf
1	0,8965
2	0,5862
3	0,8275, 0,7241, 0,3793, 0,2586
4	0,1724
5	0,1034
6	0,0689
7	0,0517

Pengamatan fraksi aktif sarang semut dari hasil penyemprotan dengan larutan DPPH 0,04% dapat dilihat pada tabel 2.

Dari hasil pengamatan pada tabel 2 dapat disimpulkan bahwa fraksi aktif sarang semut yaitu fraksi 6 (F₆).

PEMBAHASAN

Pada penelitian ini digunakan sampel tumbuhan sarang semut yang diekstraksi menggunakan metode maserasi. Sampel direndam dengan cairan penyari etanol 70% selama 3 x 24 jam. Cairan penyari akan menembus dinding sel sampel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif, zat aktif akan larut dalam cairan penyari sehingga terjadi perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dan cairan penyari di luar sel, sehingga larutan pekat akan berdifusi

keluar sel, dan proses ini terjadi berulang kali sampai terjadi keseimbangan antara konsentrasi cairan zat aktif di dalam sel dan di luar sel. Ekstrak sarang semut kemudian di saring dan diuapkan hingga diperoleh ekstrak kental sebanyak 53,403 g.

Tabel 2. Hasil Pengamatan terhadap Fraksi

Fraksi	Hasil pengamatan
1	Terbentuk sedikit warna kuning pada spot dengan latar berwarna ungu
2	Terbentuk warna kuning yang lebih dominan pada spot di bandingkan fraksi 1 dengan latar berwarna ungu. Pengikatan terhadap radikal bebas masih sedikit
3	Terbentuk warna kuning yang lebih dominan dibandingkan dengan fraksi 2 dengan latar berwarna ungu. Pengikatan terhadap radikal bebas masih sedikit
4	Terbentuk warna kuning yang terang pada spot dengan latar berwarna ungu. Pengikatan terhadap radikal bebas lebih sedikit dibanding fraksi 2 dan 3
5	Terbentuk warna kuning yang terang pada spot dengan latar berwarna ungu. Pengikatan terhadap radikal bebasnya lebih banyak dibanding fraksi 4
6	Terbentuk warna kuning yang lebih terang dibandingkan dengan fraksi lain dengan latar berwarna ungu. Pengikatan terhadap radikal bebas lebih banyak dibandingkan dengan fraksi lain
7	Terbentuk warna kuning yang sama terangnya dengan fraksi 6 dengan latar berwarna ungu. Pengikatan terhadap radikal bebas lebih sedikit dibandingkan dengan fraksi 6

Setelah proses ekstraksi maka proses dilanjutkan dengan penentuan isolat aktif. Isolat aktif tumbuhan sarang semut ditentukan setelah isolasi dengan suatu pelarut menggunakan kromatografi kolom. Pemisahan dengan kromatografi lapis tipis (KLT) digunakan untuk menentukan fraksi aktif ekstrak sarang semut. Spot hasil pemisahan komponen ekstrak dilihat menggunakan lampu UV 254 nm dan 366

nm. Fase gerak yang digunakan adalah campuran Heksan:etil asetat (2:1).

Fraksi-fraksi diperoleh dengan cara fraksinasi menggunakan kromatografi kolom. Kromatografi kolom yang digunakan adalah kromatografi kolom konvensional yang merupakan suatu metode yang cukup mudah dan murah untuk melakukan fraksinasi dalam skala laboratorium.



Gambar 1. Tumbuhan sarang semut



Gambar 2. Potongan umbi sarang semut



Gambar 3. Ekstrak sarang semut

Pelarut yang digunakan untuk mengelusi komponen ekstrak etil asetat dari hasil partisi ekstrak sarang semut merupakan pelarut terbaik hasil pemisahan dengan KLT, yaitu campuran heksan : etil asetat (5:1, 4:1, 3:1, 2:1, 1:1 dan 0:1). Pada pemisahan dengan kromatografi kolom, eluat ditampung dalam vial dengan volume

10 ml. Berdasarkan hasil fraksinasi, diperoleh komponen hasil pemisahan sebanyak 74 vial. Dari masing-masing perbandingan eluen diambil 2 vial dan diidentifikasi menggunakan KLT dengan cara menentukan nilai Rf masing-masing komponen. Nilai Rf yang sama dianggap sebagai satu fraksi. Berdasarkan hasil KLT di dapatkan 7 fraksi.



UV 366



UV 254

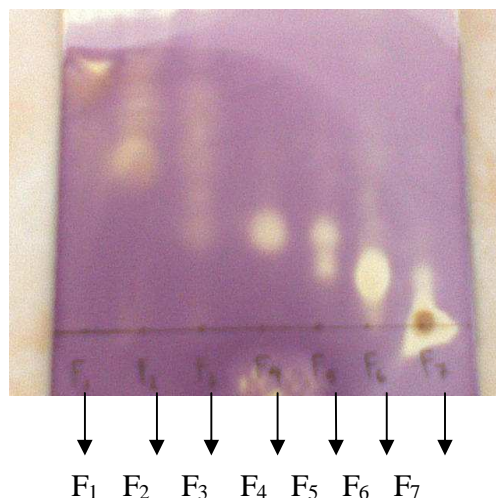
Gambar 4. Spot Hasil Pemisahan komponen menggunakan lampu UV



Gambar 5. Isolasi dengan Kromatografi Kolom



Gambar 6. Isolat hasil Kromatografi kolom



Gambar 7. Hasil penyemprotan fraksi dengan menggunakan larutan DPPH

Penentuan fraksi aktif (F_6) dari ekstrak sarang semut dilakukan berdasarkan penampakan warna spot ekstrak dengan cara menyemprotkan larutan DPPH 0,04% dalam etanol pada beberapa fraksi ekstrak yang sudah di totolkan pada plat KLT dengan fasa diam silika gel. Larutan DPPH menghasilkan warna ungu pada pelat KLT. Komponen aktif bereaksi dengan DPPH sehingga DPPH menjadi bentuk tereduksinya dan ditandai dengan berkurangnya intensitas warna ungu dari larutan DPPH pada spot fraksi ekstrak. Fraksi aktif (F_6) dilihat pada spot-spot fraksi yang memiliki intensitas warna ungu yang rendah atau terlihat paling pudar dimana terlihat warna kuning yang terang dan lebih dominan di banding fraksi yang lainnya. Hasil pewarnaan spot fraksi dengan DPPH menunjukkan bahwa fraksi yang dianggap paling aktif adalah fraksi yang dilihat dari terbentuknya warna kuning yang lebih terang dan lebih dominan dibanding fraksi yang lainnya, ini menandakan bahwa fraksi (F_6) lebih banyak mengikat radikal bebas (DPPH).

PENUTUP

Kesimpulan

Hasil penyemprotan fraksi aktif (F₆) sarang semut dengan DPPH ditandai dengan terbentuknya warna kuning yang terang pada spot KLT.

Saran

Aktivitas antioksidan sarang semut perlu digunakan metode lain untuk mengetahui potensi sarang semut sebagai antioksidan lemah atau kuat, dan perlu dilanjutkan dengan penelitian ke arah elucidasi struktur senyawa untuk memperoleh senyawa murni

DAFTAR PUSTAKA

1. Anonim. **1986**, *Sediaan galenik*. Dirjen POM. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
2. Baumann, L.M.D. **2002**, *Cosmetic dermatology, principles and practice*. Hongkong: MCGraw-Hill companies.
3. Dalimartha, S. **2000**, *Atlas tumbuhan obat Indonesia*. Jakarta: Trubus Agriwidya.
4. Day, Jr.R.A.; & Underwood, A.L. **2002**, *Analisis kimia kuantitatif*, Edisi V. Terjemahan oleh Soendoro. Jakarta: Penerbit Erlangga., p. 388.
5. Gritter, R.J.; Bobbit, J.M.; & Schwarting, A.E. **1991**, *Pengantar kromatografi*, edisi 2. Bandung: ITB; 1991. p. 160-163
6. Hanani, E. **2006**, Uji Aktivitas Antioksidan Beberapa Spons Laut dari Kepulauan Seribu. 2006. p. 3-1, *Jurnal Bahan Alam Indonesia*, Vol. 6.
7. Harborne, J.B. **1987**, *Metode fitokimia*. Bandung: Institut Teknologi Bandung; 1987. p. 13.
8. Hasty, S. **2009**, Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Rimpang Kencur (*Kaempferia galangal*.) Dengan Metode DPPH., Makassar.
9. Hendayana, S. **2006**, *Kimia Pemisahan*. Bandung: PT Remaja Rosdakarya.; p. 2.
10. Hernani.; & Rahardjo, M. **2005**, *Tanaman Berkhasiat Antioksidan*. Jakarta: Penebar Swadaya; 2005. p. 8-10
11. Khopkar, S.M.**1990**, *Konsep Dasar Kimia Analitik*. Jakarta: UI- Press; p. 215-216
12. Molyneux, P. **2004**, The Use Of The Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) For Estimating Antioxidant Activity. *Songklanakar J. Sci: Technol*; 2004. p. 219-211
13. Muchtadi, D. **2009**, *Gizi Anti Penuaan Dini*. Bandung; Alfabeta.
14. Pokorni, J.; Yanishlieva, N.; & Gordon, M. **2001**, *Antioxidant in Food. Practical Application*. New York.; CRC Press; p. 42
15. Pratiwi, E. **2009**, Aktivitas antioksidan ekstrak dan fraksi aktif temukunci (*Boesenbergia pandurata* Roxb). *Aktiv Antiok ekst* (online) 2009.
<http://iirc.ipb.ac.id/jspui/bitstream/123456789/12658/2/G09epr.pdf>. Diakses 7 Juni 2010
16. Rininta, N. **2010**, *Klt Autografi-Cuprac Sebagai Teknik Cepat Pendeteksian Senyawa Antioksidan*. Available from: <http://iirc.ipb.ac.id/jspui/bitstream/123456789/23066/1/G08nri.pdf>. Diakses 7 Juni 2010
17. Sastrohamidjojo, H. **1985**, *Spektroskopi*. Yogyakarta: Penerbit Liberty; p.39-42
18. Subroto, A.; & Saputro, H. **2008**, *Gempur Penyakit Dengan Sarang Semut*. Jakarta: Penebar swadaya; p. 17-26
19. Subroto, A.; & Saputro, H. **2009**, Kandungan Sarang Semut. *Analycal Chem* [serial online] 2008. Available from:<http://tabloidgallery.wordpress.com>. Diakses 27 November 2009. p. 1
20. Suhadiyah, S.; & Tambaru, E. **2010**, *Yayasan Keragaman Hayati Sulawesi*. Makassar: Yayasan keragaman hayati Sulawesi.
21. Suhartono, dkk. **2004**, Peran Rebusan Daun Tapak Dara (*Catharunthus roseus* L) Sebagai Antioksidan Dalam Menghambat Fotooksidasi Cairan Nutrisi Paranteral Glukosa. *Majalah Obat tradisional vol.9*. 2004. p.21-25.
22. Tan, H.T.; & Rahardja, K. **2008**, *Obat-Obat Penting Edisi Keenam*. Jakarta: PT. Elex Media Komputindo Kelompok Kompas - Gramedia; p. 844.
23. Winarsi, H. **2007**, *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Yogyakarta: Kanisius.