

Screening Fitokimia dan Studi Aktivitas Ekstrak Daun Sintok (*Cinnamomum sintoc* Bl.) Sebagai Antioksidan dan Antihiperlipidemia

(*Phytochemical Screening and Activities Study of Sintoc Leaves (*Cinnamomum sintoc* Bl.) Extracts as Antioxidant and Antihyperlipidemic*)

Ardine Kumalasari^{1,2)}, Wuryanti Handayani¹⁾, Tri Agus Siswoyo²⁾

¹⁾Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Jember

²⁾Central for Development of Advanced Science and Technology (CDAST), Universitas Jember

Jln. Kalimantan 37, Jember 68121

E-mail: wuryanti.handayani@gmail.com

Abstrak

Cinnamomum sintoc Bl. merupakan tanaman yang memiliki kandungan minyak atsiri di kulit batangnya yang digunakan untuk antioksidan, antihiperlipidemia dan lain-lain. Dari penelitian ini, senyawa metabolit sekunder dari daun sintok (kadar air 54,7%±0,69) diekstrak dengan metanol dan dianalisis dengan reagen spesifik. Daun sintok diekstraksi secara maserasi bertingkat dengan meningkatkan kepolaran pelarut, yaitu n-heksana, etil asetat, metanol. Uji antioksidan dan antihiperlipidemia dilakukan pada setiap ekstrak (HS, ES, MS) menggunakan standar asam galat equivalent. Total fenolik dan total flavonoid dihitung menggunakan kurva standar asam galat dan kuersetin, hasil total fenolik dari setiap ekstrak antara lain HS (39,23±2,79 mg AGE/g); ES (110,77±2,37 mg AGE/g); dan MS (283,63±3,96 mg AGE/g). Aktivitas antioksidan pada ekstrak ditentukan dengan kemampuan ekstrak untuk meredam DPPH sedangkan aktivitas antihiperlipidemia ekstrak ditentukan dengan kemampuan ekstrak untuk menghambat kinerja lipase. Potensi ekstrak daun sintok terhadap antioksidan cukup tinggi hanya untuk ekstrak MS, sedangkan potensi terhadap antihiperlipidemia untuk semua jenis ekstrak.

Kata Kunci: *Cinnamomum sintoc* Bl., fitokimia, maserasi, fenolik, antioksidan, antihiperlipidemia.

Abstract

Cinnamomum sintoc Bl. is one of plant who has essential oil on their bark and it is used as antioxidant, antihyperlipidemic, etc. From this study secondary metabolite compounds of sintok leaves (water percentage 54,7%±0,69) extracted with methanol and than analyzed with specific reagent. Sintok leaves been extracted by continuous maseration with increasing solvent polarity, of n-hexane, ethyl acetate, and methanol. Antioxidant and antihyperlipidemic test used every extract (HS, ES, MS) using standart galat acid equivalent. Fenolics and flavonoids total counting use standart curve galat acid and quersetin, total result of fenolics from every extract such us HS (39,23±2,79 mg GAE/g); ES (110,77±2,37 mg GAE/g); dan MS (283,63±3,96 mg GAE/g). Antioxidant activities of extract determined with capabilities of extract to muffle DPPH while antihyperlipidemic activities of extract determined with capabilities of extract to obstruct lipase working. Potential of extract sintoc leaves to antioxidant high enough only to extract MS, while potential to antihyperlipidemic for all varian extract.

Keywords: *Cinnamomum sintoc* Bl., phytochemical, maseration, phenolics, antioxidant, antihyperlipidemic.

PENDAHULUAN

Cinnamomum merupakan genus tanaman pepohonan evergreen aromatik. Kulit kayu genus tanaman ini sering digunakan sebagai rempah-rempah dan obat. Banyak senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam genus *cinnamomum* ini [1]. Tanaman sintok sebagai salah satu spesies dari genus *cinnamomum* ini, bagian kulit batangnya sering digunakan sebagai obat. Kulit batang sintok mengandung alkaloid, flavonoid, fenolik dan lain-lain [2].

Senyawa metabolit sekunder merupakan senyawa organik alami yang berasal dari tumbuhan dimana senyawa ini bertindak sebagai pelindung tumbuhan dari gangguan lingkungan. Senyawa ini memiliki struktur kimia yang kompleks dimana senyawa ini merupakan produk buangan (*waste products*) dari suatu biosintesis [3]. Senyawa ini dapat diisolasi melalui tahapan proses seperti penghalusan, pengeringan ataupun liofilisasi buah dan sayuran dengan

cara perendaman dan selanjutnya diekstrak dengan pelarut [4]. Senyawa ini banyak digunakan sebagai antioksidan, antimikroba, antikanker dan lain sebagainya.

Antioksidan dalam arti kimia merupakan senyawa donor elektron terhadap radikal bebas. Antioksidan secara biologis mampu mengatasi dampak negatif dari oksidasi dalam tubuh seperti kerusakan sel tubuh. Keseimbangan antara oksidan dan antioksidan sangat penting, hal ini berkaitan dengan sistem imunitas dalam tubuh [5]. Bentuk alami yang berpotensi sebagai antioksidan adalah tanaman yang mengandung flavonoid dan tanin dimana kedua senyawa tersebut tergolong senyawa fenolik [6]. Hiperlipidemia adalah tingginya kadar asam lemak dalam darah. Lemak dalam tubuh dihidrolisis oleh lipase pankreas untuk menghasilkan asam lemak. Asam lemak hasil hidrolisis trigleserida oleh lipase pankreas diangkut menuju permukaan mikrovili lalu diserap ke dalam pembuluh darah [7]. Penurunan resiko penyakit hiperlipidemia dapat dilakukan dengan penghambatan aktivitas lipase pankreas

sehingga penumpukan asam lemak dalam darah akan berkurang.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan di laboratorium *Center for Development of Advance Science and Technology* (CDAST) Univeristas Jember.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun sintok diperoleh dari Taman Nasional Merubetiri Kabupaten Jember, n-heksana (Merck), etil asetat (Merck), metanol (Merck), NaOH (Merck), HCl (Merck), reage Dragendroff (Merck), H₂SO₄ (Merck), FeCl₃ (Merck), asam galat (Sigma-Aldrich), kuersetin (nacalai tasque), DPPH (nacalai tasque), asam askorbat (nacalai tasque), lipase procine pancreas (Sigma Aldrich), orilstat (Roche S. p. A. Millan) akuades, tisu, kertas saring, dan aluminium foil.

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah blender, ayakan berukuran 60 mesh, seperangkat alat gelas, oven, blender, neraca analitik (ES 2255M-DR), shaker, rotary evaporator (Steroglass), buchner, set alat spektrofotometer Uv-Vis (Hitachi U-2900), dan set alat microplate reader.

Preparasi Sampel

Daun sintok dipisahkan dari batangnya kemudian dibersihkan. Sampel dikering anginkan dalam ruangan selama 10 hari tanpa terkena sinar matahari. Sampel daun yang telah kering dihaluskan menggunakan blender dan diayak menggunakan ayakan 60 mesh.

Penentuan kadar air

Sampel daun dan simplisia daun sintok sebanyak 3-4 gram dioven selama 3-5 jam pada suhu 105 °C. Sampel selanjutnya didinginkan dalam desikator selama 30 menit, lalu ditimbang sampai diperoleh berat konstan [8].

Uji Fitokimia

Simplisia daun sintok sebanyak 10 gram dimaserasi menggunakan metanol (p.a) sebanyak 50 mL. Maserasi dilakukan selama 3x24 jam, ekstrak disaring menggunakan corong buchner. Filtrat di evaporasi sehingga membentuk ekstrak kental. Ekstrak diuji dengan reagen spesifik masing-masing senyawa metabolit sekunder antara lain flavonoid, alkaloid, steroid, terpenoid, dan tanin[9].

Tabel 1. Perubahan Warna Positif *Screening* Fitokimia

Senyawa Metabolit Sekunder	Reagen Spesifik	Perubahan Positif
Flavonoid	Reagen Basa (NaOH)	Kuning
Alkaloid	Reagen Dragendroff	Endapan orange
Steroid	Asam kuat	Hijau
Terpenoid	Asam kuat	Coklat
Tanin	Besi(III) klorida	Hijau kehitaman

Ekstraksi Senyawa Metabolit Sekunder

Simplisia sebanyak ±50 gram direndam dengan heksana sebanyak 250 mL dan *dishaker* selama 3x24 jam pada suhu ruang dengan kecepatan 150 *rotation per minutes* (rpm). Hasil rendaman difiltrasi, residu diekstrak kembali dengan heksana. Aktivitas ini diulang sebanyak ±9 kali. Filtrat dari heksana dicampur dan dilakukan evaporasi dengan untuk

menghasilkan ekstrak (HS). Residu sisa heksana diuapkan untuk menghilangkan larutan heksana, selanjutnya dilakukan ekstraksi serupa dengan pelarut yang berbeda yaitu etil asetat untuk ekstrak ES dan metanol untuk ekstrak MS.

Pembuatan Larutan Stock

Ekstrak kental HS, ES dan MS diambil ±20,00 mg ditambah dengan 10 mL methanol. Larutan *stock* dikocok hingga homogen. Larutan *stock* digunakan sebagai pengujian.

Analisa Total Fenolik

Larutan *stock* ekstrak HS, ES dan MS sebanyak 50 mL dimasukkan dalam tabung reaksi yang berbeda. Setiap tabung reaksi ditambahkan 1 mL Na₂CO₃ 2% (w/v) dan 50 mL reagen Folin-Ciocalteu 50% (v/v) dan diinkubasi kembali selama 30 menit. Larutan diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 750 nm. Total fenolik dari ekstrak-ekstrak tersebut ditentukan dalam mg asam galat *equivalent* (AGE) per gram dengan menggunakan hasil persamaan dari kurva standar asam galat[10].

Analisa Total Flavonoid

Larutan *stock* ekstrak HS, ES dan MS sebanyak 150 mL dimasukkan dalam tabung reaksi yang berbeda. Setiap tabung reaksi ditambahkan 400 mL akuades, 30 mL NaNO₂ 5% (w/v) dan 3 mL AlCl₃ 10% (v/v). Setelah diinkubasi selama 6 menit ditambahkan 200 mL NaOH 1 M dan 240 mL akuades. Larutan diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 415 nm. Total flavonoid dari ekstrak-ekstrak tersebut ditentukan dalam mg kuersetin *equivalent* (KE) per gram dengan menggunakan hasil persamaan dari kurva standar kuersetin[11].

Uji Antioksidan

Sebanyak 200 µL ekstrak dengan 5 konsentrasi yang berbeda (µg AGE/mL) dimasukkan ke dalam 96-*well plates* dan ditambahkan 100 µL reagen DPPH 90 µM lalu diinkubasi selama 30 menit. Absorbansi larutan diukur pada panjang gelombang 515 nm. Vitamin C digunakan sebagai pembanding. Persen peredaman radikal DPPH pada masing-masing konsentrasi ekstrak dihitung untuk mendapatkan nilai IC₅₀[12].

Uji Antihiperlipidemia

Pembuatan Substrat

p-NPB sebanyak 1,61 mg ditambah 1,0 mL triton X-100 4% (w/v). Setelah itu dipanaskan pada suhu 55-60 °C hingga larut. Selanjutnya ditambah 0,1 mL buffer asetat 1 M (pH 5,61) dan diinkubasi selama 5 menit lalu ditambah 0,8 mL akuades[13].

Pengujian Sampel

Subtrat sebanyak 300,0 mL dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 5 menit. Sampel (20 mg AGE) sebanyak 50 mL dan 80,0 mL lipase ditambahkan dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 15 menit. Dilakukan penambahan 670,0 µL aseton. Absorbansinya diukur pada panjang gelombang 412 nm[13].

HASIL DAN PEMBAHASAN

Daun sintok memiliki kadar air 54,7%, sedangkan simplisia daun sintok memiliki kadar air 10,8%. Rendemen ekstrak yang diperoleh dari hasil ekstraksi dapat dilihat pada Tabel 2. Perbedaan rendemen yang diperoleh dari masing-masing pelarut menandakan polaritas senyawa kimia yang terekstrak. Kenaikan kepolaran pelarut ekstraksi diikuti oleh kenaikan rendemen ekstrak. Hal ini menunjukkan bahwa dalam daun Sintok banyak memiliki senyawa kimia polar daripada non polar.

Tabel 2. Rendemen Ekstrak Daun Sintok

Pelarut	Berat ekstrak (g)	Rendemen (%)
n-heksana	1,490	2,98
etil asetat	1,700	3,42
metanol	3,380	7,11

Hasil Screening Fitokimia Daun Sintok

Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa ekstrak MS memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder lebih banyak daripada HS dan ES. Perubahan warna ekstrak daun sintok juga sesuai dengan perubahan warna yang dijelaskan oleh literatur ketika ditambahkan masing-masing reagen. Perubahan warna ekstrak dibandingkan dengan kontrol negatif yang berupa metanol[9].

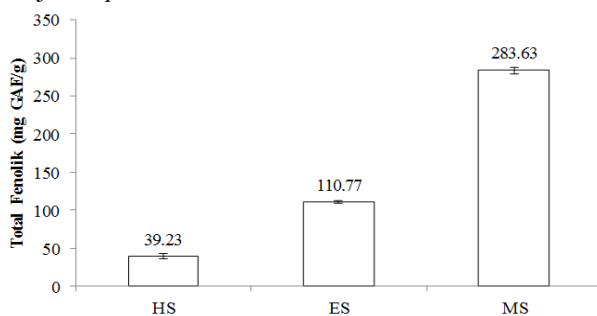
Tabel 3. Hasil Screening Fitokimia

Jenis Senyawa	Hasil Uji		
	HS	ES	MS
Flavonoid	-	+	+
Alkaloid	-	-	+
Steroid	+	+	+
Terpenoid	-	-	+
Tanin	-	-	+

(+) hasil positif; (-) hasil negatif

Kandungan Total Fenolik dan Flavonoid Daun Sintok

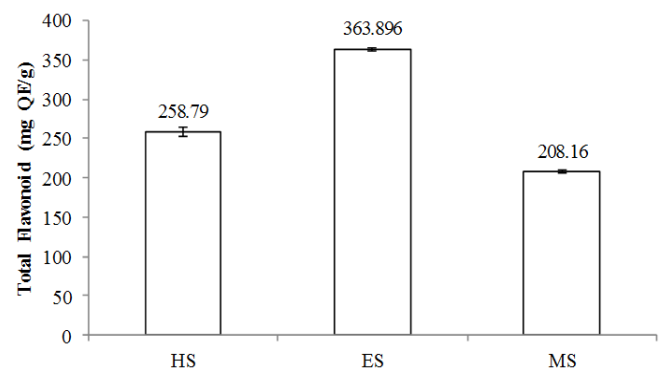
Prinsip metode analisa total fenolik berdasarkan kemampuan ion fenolat yang merupakan bentuk aktif senyawa fenolik untuk mereduksi reagen Folin-Ciocalteu. Ion fenolat dibentuk dari hasil reaksi senyawa fenolik dengan natrium karbonat. Reduksi reagen Folin-Ciocalteu oleh ion fenolat mengubah warna reagen dari kuning menjadi biru karena terbentuknya kompleks. Standar total fenolik dalam ekstrak menggunakan perhitungan dari persamaan kurva standar asam galat. Kurva standar yang dihasilkan persamaan linier $y = 0,044x - 0,019$ dengan linieritas sebesar 0,991. Total fenolik ekstrak daun Sintok ditunjukkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Total fenolik daun sintok

Total fenolik ekstrak daun Sintok meningkat seiring dengan peningkatan kepolaran pelarut yang digunakan untuk mengekstrak. Kepolaran yang tinggi menyebabkan pelarut metanol memiliki total fenolik lebih tinggi daripada pelarut yang lain. Hal ini disebabkan kemampuan metanol dalam membentuk ikatan hidrogen, interaksi dipol-dipol dan van der Waals dengan senyawa fenolik.

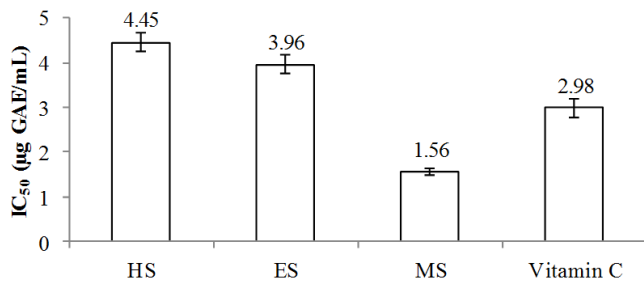
Prinsip metode analisa flavonoid berdasarkan pembentukan kompleks antara gugus katekol yang telah teroksidasi dengan logam aluminium pada senyawa $AlCl_3$. Kompleks tersebut memiliki warna kuning pada kondisi basa. Reduksi senyawa kompleks oleh NaOH mengubah warna reagen menjadi kuning karena terbentuknya struktur quinon. Standar total flavonoid dalam ekstrak menggunakan perhitungan dari persamaan kurva standar kuersetin. Kurva standar yang dihasilkan persamaan linier $y = 0,0181x - 0,0059$ dengan linieritas sebesar 0,99. Total flavonoid ekstrak daun Sintok ditunjukkan pada Gambar 2.



Gambar 2. Total flavonoid daun sintok

Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Sintok

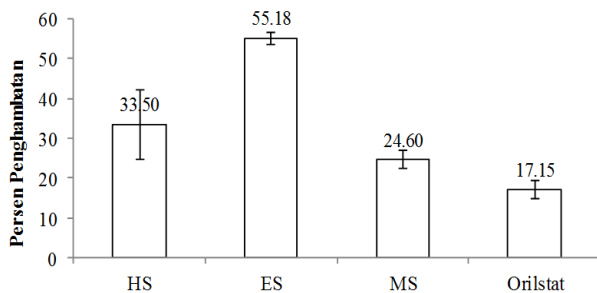
Prinsip metode analisa aktivitas ini berdasarkan kemampuan antioksidan menghambat radikal bebas dengan mendonorkan atom hidrogen pada DPPH [14]. Hasil analisa kuantitatif ini berdasarkan penurunan intensitas warna DPPH. Senyawa DPPH yang memiliki warna ungu akan menjadi kuning karena adanya delokalisasi electron atom nitrogen oleh senyawa antioksidan[15]. Peredaman DPPH dalam analisa ini merupakan kemampuan ekstrak pada konsentrasi terhadap fenolik untuk menghambat aktivitas radikal bebas. Konsentrasi fenolik digunakan karena kebanyakan senyawa fenolik yang dapat bersifat sebagai antioksidan. Nilai IC_{50} menunjukkan nilai konsentrasi yang dibutuhkan untuk meredam 50% aktivitas radikal bebas DPPH[16]. Potensi antioksidan yang dimiliki ekstrak daun Sintok meningkat seiring dengan kepolaran pelarut yang digunakan untuk mengekstrak. Ekstrak MS memiliki potensi antioksidan paling baik sebagai peredaman DPPH karena memiliki IC_{50} terkecil (Gambar 3). Senyawa fenolik polar memiliki substituen hidroksil lebih banyak dari pada senyawa fenolik semi polar dan non polar sehingga jumlah atom hydrogen yang mampu disumbangkan oleh senyawa fenolik polar untuk mereduksi radikal DPPH lebih banyak.



Gambar 3. Nilai IC₅₀ peredaman radikal DPPH oleh ekstrak daun Sintok

Aktivitas Antihiperlipidemia Ekstrak Daun Sintok

Prinsip metode analisa aktivitas ini berdasarkan kemampuan ekstrak dalam menghambat lipase untuk memotong p-NPB menjadi ion p-nitrofenolat dan asam butirat. Hasil analisa kuantitatif ini berdasarkan penurunan intensitas warna kuning yang berasal dari reaksi antara ion p-nitrofenolat dengan aseton. Ion p-nitrofenolat akan menjadi kuning karena adanya penambahan atom H sehingga menjadi senyawa p-nitrofenol yang memiliki sifat fisik berwarna kuning[17]. Analisa ini menggunakan orlistat sebagai kontrol positif penghambatan lipase. Potensi antihiperlipidemia yang dimiliki ekstrak daun Sintok sama dengan pola total flavonoid (Gambar 2). Ekstrak ES memiliki potensi antihiperlipidemia paling baik sebagai penghambatan lipase (Gambar 4).



Gambar 4. Nilai persen penghambatan lipase oleh ekstrak daun sintok.

KESIMPULAN

Senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam daun Sintok antara lain flavonoid, alkaloid, steroid terpenoid, dan tanin. Ekstrak MS berpotensi sebagai antioksidan dibandingkan vitamin C sebagai standar sedangkan HS dan ES tidak berpotensi. Ekstrak Sintok berpotensi sebagai antihiperlipidemia dibandingkan orlistat sebagai standar. Ekstrak ES paling berpotensi sebagai antihiperlipidemia karena memiliki nilai persen penghambatan lipase yang paling tinggi.

DAFTAR PUSTAKA

[1] Kadam, D. D., Mane, P. C., dan Chaundhari, R. D. 2013. Phytochemical Screening and Pharmacological Applications of Some Selected Indian Species. *International Journal of Science and Research*. 4 (3): 704-706.

[2] Alfira, A. 2014. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak dan Fraksi Aktif Kulit Batang Sintok. *Skripsi*. Jakarta: UIN Syarif Hidayatullah.

[3] Wink. 1999. *Metabolit Sekunder Manfaat dan Perkembangannya dalam Dunia Farmasi*. <http://lib.ugm.ac.id/>. [Diakses pada 20 April 2016].

[4] Merken, H. M. dan Beecher, G. R. 2000. Measurement of Food Flavonoids by High-Performance Liquid Chromatography. *J Agric Food Chem*. 48(3): 577-599.

[5] Winarsi, H. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Yogyakarta: Kanisius.

[6] Jin, L., Zhang, Y., Yan, L., Guo, Y., dan Niu, L. 2012. Phenolic Compounds and Antioxidant Activity of Bulb Extracts of Six Liliun Species Native to China. *Molecule*. 17: 9361-9378.

[7] Shin, J. E., Han M. J., dan Kim D. H. 2003. 3-methylethergalangin Isolated from *Alpinia Officinarum* Inhibits Pancreatic Lipase. *J Biol Pharma*. 26(6): 854-857.

[8] Sudarmadji, S., Haryono, B., dan Suhardi. 1989. *Prosedur Analisis untuk Bahan Makanan dan Pertanian*. Yogyakarta: Liberty.

[9] Tiwari, P., Kumar, B., Kaur, M., Kaur G., dan Kaur, H. 2011. Phytochemical Screening and Extraction: A Review. *International Pharmaceutica Scientia*. 1(1): 98-106.

[10] Taga, M. S., Miller, E. E., dan Prat, D. E. 1984. Chia seeds as a source of nature lipid antioxidants. *J. Am. Oil. Chem. Soc*. 61: 928-931.

[11] Chang, W. C., Kim, S. C., Hwang, S. S., Choi., B. K., Ahn, H. J., Lee, M. Y., Park, S. H., dan Kim., S. K. 2002. Antioxidant activity and free radical scavenging capacity between Korean medicinal plants and flavonoids by assay-guided comparison. *Plant Sci*. 163: 1161-1168.

[12] Soler-Rivas, C., Espín, J. C., dan Wichers, H. J. 2000. An easy and fast test to compare total free radical scavenger capacity of food stuffs. *Phytochem. Anal*. 11: 330-338.

[13] Nakaku, N. 2002. *Amano Enzyme for Diagnostic*. Japan: Amano Enzyme Inc.

[14] Prakash, A., Rigelhof, F., dan Miller, E. 2001. Antioxidant Activity. *Medalion Labs*.

[15] Reynetson, K. A. 2007. *Phytochemical Analysis of Bioactive Constituents from Edible Myrtaceae Fruit*. *Dissertation*. New York: The City University of New York.

[16] Molyneux, P. 2004. The use of the stable free radical diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin J. Sci. Technol*. 26: 211-219.

[17] Pliego, J., Mateos, J. C., Rodriguez, J., Valero, F., Baeza, M., Femat, R., Camacho, R., Sandoval, G., dan Herrera-Lopez, E. J. 2015. Monitoring Lipase/Esterase Activity by Stopped Flow in a Sequential Injection Analysis System Using p-Nitrophenyl Butyrate. *Sensors*. 15: 2798-2811.