

SCREENING FITOKIMIA DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DARI EKSTRAK ASETON PUCUK IDING-IDING (*STENOCHLAENA PALUSTRIS*) BANGKA

Occa Roanisca dan Robby Gus Mahardika*

¹⁾Jurusan Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Bangka Belitung
Jl. Kampus Peradaban, Merawang, Bangka, 33172

e-mail: robbygusmahardika@gmail.com

ABSTRAK

Pucuk Iding-Iding (*Stenochlaena palustris*) merupakan tanaman paku yang banyak tumbuh di rawa-rawa pulau Bangka. Masyarakat Bangka sering menggunakan pucuk iding-iding sebagai makanan. Pucuk iding-iding juga dipercaya sebagai obat antiseptik. Mengingat khasiatnya yang begitu bermanfaat bagi masyarakat, maka perlu dilakukan *screaning* fitokimia dan aktivitas biologis dari pucuk iding-iding (*Stenochlaena palustris*) dari Bangka. Oleh sebab itu dilakukan penelitian mengenai *screaning* fitokimia dan aktivitas antioksidan pucuk iding-iding (*Stenochlaena palustris*) dari pulau Bangka. Pada penelitian ini, pengambilan ekstrak iding-iding dilakukan dengan metode maserasi dengan menggunakan pelarut aseton. Ekstrak ini selanjutnya akan dilakukan *screaning* fitokimia dan aktivitas antioksidannya menggunakan metode DPPH (*Diphenylpicrylhydrazyl*). Kekuatan antioksidan diukur berdasarkan penurunan absorbansi DPPH pada panjang gelombang 516 nm setelah penambahan ekstrak menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa maserasi pucuk iding-iding menggunakan pelarut aseton menghasilkan ekstrak kering seberat 14,01g (rendemen 21,55 %). Sedangkan kandungan metabolit sekunder pada ekstrak tersebut yaitu: fenol hidrokuinon (tanin), flavonoid, steroid dan terpenoid. Ekstrak ini juga aktif sebagai antioksidan dengan nilai IC₅₀ sebesar 56,981 µg/mL.

Kata kunci : *Stenochlaena palustris*, metabolit sekunder, antioksidan.

PENDAHULUAN

Provinsi Kepulauan Bangka Belitung mempunyai kondisi geografis terdiri dari rawa-rawa, daratan rendah, dan bukit-bukit. Bagian bukit-bukit terdapat hutan lebat, sedangkan rawa-rawa terdapat hutan bakau yang banyak terdapat pohon nipah, bakau dan paku-pakuan. Salah satu tumbuhan paku yang banyak terdapat di Bangka Belitung adalah Pucuk Iding-Iding (*Stenochlaena palustris*). Tanaman ini juga dikenal dengan nama lemidi, lemiding, ramiding, pau raurau, paku hurang, dan kelakai. Tanaman ini tumbuh menjalar dengan panjang mencapai 5-10 m dengan akar rimpang kuat dan pipih. Daun iding-iding mempunyai 8-15 pasang anak daun. Daun berwarna hijau dan ujung daun yang muda mempunyai warna kuning kemerah-merahan. Tanaman ini juga dapat tumbuh di rawa gambut maupun rawa air tawar bersama dengan tanaman lain (Steenis, 1981).

Masyarakat Bangka Belitung menggunakan pucuk Iding-Iding sebagai sayur yang dipercaya sebagai penambah darah, selain itu pucuk iding-iding juga dipercaya sebagai obat luka dan bisul. Akan tetapi, bukti tersebut belum dibuktikan secara ilmiah. Perlu adanya kajian metabolit sekunder yang bertujuan untuk mengetahui golongan senyawa kimia yang terkandung dalam suatu tanaman yang sedang diteliti.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan sebelumnya, kandungan metabolit sekunder dari ekstrak daun pucuk iding-iding dari Samarinda Kalimantan Timur meliputi flavonoid, alkaloid,

saponin, dan steroid (Tahir, 2013). Sedangkan ekstrak metanol pada pucuk iding-iding dari Banjarbaru Kalimantan Selatan yaitu flavonoid, fenolik dan antrakuinon.

Pucuk Iding-Iding yang diteliti oleh Chai (2012) dari Kampar Malaysia banyak mengandung flavonoid, polifenol, asam hidroksi sinamat serta antrosianin. Berbeda lokasi memungkinkan tumbuhan dalam satu spesies menghasilkan metabolit sekunder yang berbeda pula. Hal ini disebabkan oleh letak geografis suatu tumbuhan tersebut untuk mempertahankan diri, sehingga metabolit sekunder yang dihasilkannya pun berbeda.

Tingginya kandungan senyawa fenolik dari pucuk iding-iding (*Stenochlaena palustris*) sangat berpengaruh terhadap bioaktivitasnya terutama sebagai antioksidan. Oleh sebab itu perlu dikaji kandungan metabolit sekunder dan aktivitas antioksidan dari pucuk iding-iding dari pulau Bangka yang kedepannya dapat dijadikan acuan untuk pengujian aktivitas biologis lainnya.

METODE PENELITIAN

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi erlenmayer, gelas ukur, corong Buchner, rotary evaporator, neraca analitik, pipet tetes, tabung reaksi, batang pengaduk, spatula, labu ukur, rak tabung reaksi, spektrofotometer UV-Vis 1800 Shimadzu dan hot plate. Sedangkan bahan-bahan yang digunakan meliputi daun Pucuk Iding-Iding (*Stenochlaena palustris*) dari Pagar Awan Kepulauan Bangka

Belitung, kertas saring Whatman no 1, aluminium foil, aseton, metanol, etanol p.a, kloroform, n-heksana, H₂SO₄ pekat asam asetat glasial, FeCl₃, HCl, serbuk Mg, pereaksi Mayer, pereaksi Wagner dan aqudest.

Preparasi Sampel. Daun pucuk iding-iding (*Stenochlaena palustris*) yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari Desa Pagar Awan, Kecamatan Merawang, Kabupaten Bangka. Selanjutnya sampel tersebut akan dikeringkan di udara terbuka, setelah itu digiling menjadi serbuk kering yang selanjutnya siap untuk dimaserasi.

Ekstraksi. Serbuk kering daun Pucuk Iding-Iding (*Stenochlaena palustris*) diambil 65 gram kemudian dimaserasi dengan pelarut aseton sebanyak 325 mL selama 2x24 jam. Maserasi dilakukan dua kali. Setelah itu dipisahkan antara filtrat dengan residu menggunakan corong buchner. Filtrat yang diperoleh dipekatkan dengan *rotary evaporator vacuum* hingga diperoleh ekstrak pekat aseton (Dungir, 2012).

Identifikasi Metabolit Sekunder (fitokimia). Identifikasi metabolit sekunder terhadap ekstrak aseton kering dilakukan secara kualitatif dari daun pucuk iding-iding (*Stenochlaena palustris*). Identifikasi dilakukan di Laboratorium MIPA FPPB UBB.

Identifikasi senyawa alkaloid, ekstrak kasar ditambah 0,5 mL HCl 2 %, selanjutnya larutan dibagi dalam dua tabung. Tabung I ditambahkan 2 – 3 tetes reagen Wagner, tabung II ditambahkan 2 – 3 tetes reagen Mayer. **Identifikasi senyawa fenol hidrokuinon (tanin),** 50 mg ekstrak metanol, etil asetat, atau aseton dilarutkan dalam 5 mL etanol pro analis (p.a) dan ditambahkan 3 tetes larutan FeCl₃. **Identifikasi senyawa flavonoid,** metode pengujian yang dilakukan dengan uji Wilstater sianidin dengan cara ekstrak dilarutkan dalam 1 – 2 mL metanol panas 50 %, kemudian ditambah logam Mg dan 0,5 mL HCl pekat. **Identifikasi senyawa saponin,** ekstrak ditambahkan 5 mL aquadest panas. Kemudian didinginkan dan dikocok selama 10 menit. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya busa atau buih dan pada penambahan 1 tetes asam klorida 2 N buih tidak hilang. **Identifikasi senyawa terpenoid dan steroid** ekstrak kasar diambil dan dilarutkan dengan kloroform sebanyak 0,5 mL, lalu ditambah dengan 0,5 mL asam asetat. Selanjutnya ditambah dengan 1 – 2 mL H₂SO₄ pekat melalui dinding tabung tersebut.

Metabolit sekunder yang akan diidentifikasi, yaitu alkaloid, saponin, flavonoid, terpenoid. Indikator-indikator berupa perubahan warna dan pembentukan endapan dapat dijadikan bukti keberadaan metabolit sekunder.

Uji Aktivitas Antioksidan

Pengujian antioksidan dilakukan dengan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikril hidrazil). Ekstrak aseton pucuk iding iding (*Stenochlaena palustris*)i dibuat dalam variasi konsentrasi (1, 5, 8, 10, 15, 25, dan 50 µg/mL). Masing –masing konsentrasi dimasukkan dalam tabung reaksi sebanyak 1 mL dan ditambahkan larutan DPPH 100 µg/mL 1 mL serta metanol p.a. 2 mL. Selanjutnya larutan diinkubasi dalam suhu 37oC selama 30 menit dan diukur serapannya menggunakan spektroskopi UV-Vis pada panjang gelombang 516 nm. Sebagai kontrol positif, untuk pembanding digunakan vitamin C dengan konsentrasi 1, 3, 4, 5, 6, dan 8 µg/mL. Aktivitas antioksidan dihitung berdasarkan

persentase inhibisi dari masing-masing konsenrasi larutan sampel pada persamaan 1

$$\% \text{ inhibisi} = [(A_{\text{blanko}} - A_{\text{sampel}}) / A_{\text{blanko}}] \times 100\% \quad (1)$$

Aktivitas antioksidan dinyatakan dalam *Inhibition Concentration* 50% atau IC₅₀ yang didapat dari nilai x dengan y adalah 50 dari hasil persamaan regresi linier antara persentase inhibisi dengan konsentrasi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi Pucuk Iding-Iding (*Stenochlaena palustris*)

Daun Pucuk Iding-Iding (*Stenochlaena palustris*) yang telah kering diblender hingga halus. Serbuk kering 65 g dimaserasi dengan pelarut aseton 650 mL menghasilkan 14,01g ekstrak berwarna hijau tua. Rendemen yang dihasilkan dalam proses ini yaitu sebesar 21,55%). Penggunaan Pelarut aseton yang bersifat semipolar harapannya dapat mengekstrak metabolit sekunder yang bersifat polar maupun non polar. Ekstrak tersebut yang selanjutnya akan dilakukan identifikasi metabolit sekunder.

Identifikasi Metabolit Sekunder

Kandungan senyawa yang ada pada ekstrak pucuk iding-iding (*Stenochlaena palustris*) dianalisis golongan metabolit sekunder didalamnya dengan beberapa uji kulitatif menggunakan beberapa pereaksi untuk mengidentifikasi golongan senyawa alkaloid, feno hidrokuinon, flavonoid, saponin dan steroid. Hasil identifikasi metabolit sekunder disajikan pada Tabel 1.

Uji alkaloid

Pada uji alkaloid baik uji mayer atau wagner jika ekstrak mengandung alkaloid ditandai dengan terbentuknya endapan. Mayer ditandai terbentuknya endapan putih sedangkan Wagner terbentuk endapan coklat. Akan tetapi pada ekstrak iding-iding tidak terbentuk endapan sehingga dinyatakan ekstrak iding-iding tersebut tidak terdapat alkaloid. Senyawa alkaloid sendiri adalah golongan metabolit sekunder dengan ciri mempunyai atom nitrogen.

Tabel 1. Identifikasi Metabolit Sekunder Ekstrak Aseton Pucuk Iding-Iding (*Stenochlaena palustris*)

Uji	Metode Pengujian	Hasil	Ket .
Alkaloid	Mayer	Tidak terbentuk endapan putih kekuningan	-
	Wagner	Tidak terbentuk endapan coklat	-
Fenol Hidrokuinon	FeCl ₃	Terbentuk warna hijau atau hijau biru	+
Flavonoid	Uji Wilstater sianidin	Terbentuk warna jingga.	+
Saponin	Uji Forth	Tidak ada busa	-
Terpenoid dan Steroid	Uji Liebermann-Burchard	Terbentuk warna biru dan hijau	+

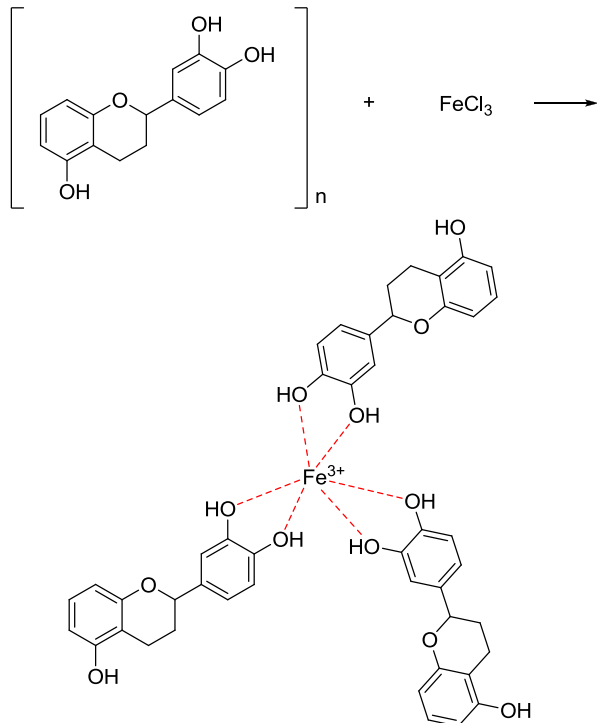
Atom nitrogen tersebut membuat alkaloid bersifat basa. Penambahan HCl pada ekstrak yang mengandung alkaloid akan membentuk suatu garam amonium. Garam tersebut yang dapat bereaksi dengan pereaksi Mayer yaitu Kalium tetraiodomerkurat(II). Atom nitrogen yang mempunyai pasangan elektron bebas pada alkaloid akan beraksi dengan ion K^+ dari kalium tetraiodomerkurat(II) membentuk kompleks kalium-alkaloid yang mengendap. Sedangkan pada uji Wagner dengan pereaksi I_2 dalam KI, alkaloid juga akan beraksi dengan K^+ membentuk kompleks kalium-alkaloid yang mengendapan (Marlina, 2005). Akan tetapi pada ekstrak aseton daun pucuk iding-iding tidak ditemukan tanda-tanda adanya senyawa golongan Alkaloid.

Uji fenol hidrokuinon (tanin)

Identifikasi adanya senyawa fenol hidrokuinon (tanin) dilakukan dengan menggunakan reagen $FeCl_3$. Pada uji ini ekstrak aseton daun pucuk iding-iding mengandung senyawa fenol hidrokuinon (tanin) yang dibuktikan dengan adanya perubahan warna pada larutan uji menjadi hijau (hijau kebiruan). Terbentuknya warna ini diakibatkan adanya reaksi antara fenol hidrokuinon (tanin) dengan Fe^{3+} dari $FeCl_3$ membentuk kompleks besi-fenol hidrokuinon (Gambar 1.). Komplek yang terjadi antara Fe^{3+} dengan gugus hidroksi pada fenol hidrokuinon (tanin) memberikan warna hijau kebiruan.

Identifikasi flavonoid

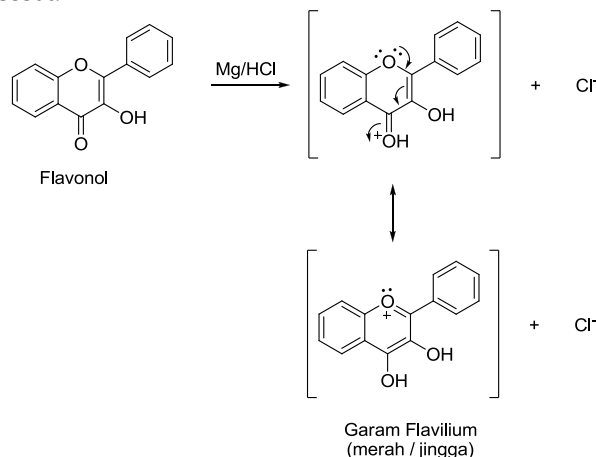
Identifikasi flavonoid dapat dilakukan dengan menggunakan metode uji Wilstater sianidin. Metode ini menggunakan reagen Mg dan HCl pekat sebagai agen pereduksi inti benzopiron pada struktur flavonoid.



Gambar 1. Reaksi fenol hidrokuinon dengan $FeCl_3$

Jika bereaksi dengan flavonoid maka akan terjadi perubahan warna menjadi merah atau jingga. Pada ekstrak aseton pucuk iding-iding terjadi perubahan warna menjadi jingga. Hal tersebut menandakan bahwa ekstrak aseton pucuk iding-iding mengandung senyawa flavonoid. Reaksi flavonoid dengan logam Mg dan

HCl akan membentuk garam flavilium yang berwarna jingga (Gambar 2.) (Achmad, 1986). Reaksi ini juga akan membentuk gelembung gas hidrogen akibat reaksi tersebut.



Gambar 2. Mekanisme reaksi garam flavilium

Identifikasi saponin

Identifikasi saponin pada ekstrak aseton daun pucuk iding-iding dilakukan menggunakan metode Forth. Pada uji ini tidak terbentuk busa pada ekstrak daun iding-iding sehingga dapat dinyatakan bahwa ekstrak aseton dari pucuk iding-iding tidak mengandung saponin.

Identifikasi terpenoid dan steroid

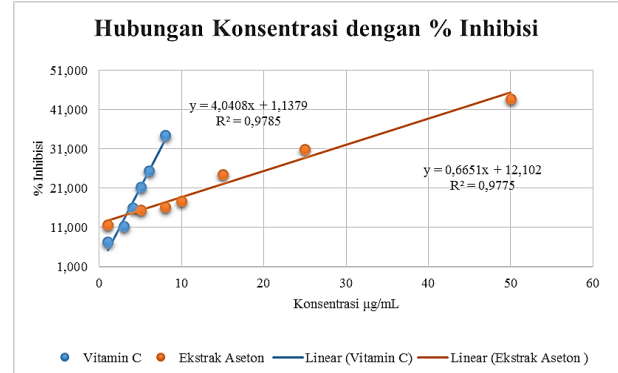
Terpenoid dan steroid dapat diidentifikasi dengan uji Liebermann-Burchard. Reagen yang digunakan meliputi CH_3COOH dan H_2SO_4 (Sangi, 2008). Pengujian Liebermann-Burchard pada pucuk iding-iding menunjukkan hasil positif dengan terbentuk warna biru kehijauan yang menunjukkan adanya kandungan steroid pada pucuk iding-iding. Penggunaan asam sulfat dengan pelarut asam asetat glasial pada uji ini berguna untuk protonasi gugus hidroksi pada terpenoid atau steroid sehingga akan membentuk warna biru kehijauan (Marlinda, 2012).

Hasil *screening* fitokimia ekstrak aseton pucuk iding-iding (*Stenochlaena palustris*) dari pulau Bangka menunjukkan bahwa kandungan metabolit sekunder yang ada meliputi fenol hidrokuinon atau tanin, flavonoid, dan steroid. Sedangkan alkaloid dan saponin tidak teridentifikasi dalam ekstrak aseton pucuk iding-iding (*Stenochlaena palustris*) tersebut. Berbeda dengan ekstrak metanol *Stenochlaena palustris* dari Samarinda yang dilakukan oleh Tahir (2013). Hasil uji fitokimia terhadap ekstrak tersebut menunjukkan bahwa adanya kandungan alkaloid, flavonoid, steroid dan saponin. Perbedaan tersebut disebabkan karena penggunaan pelarut yang berbeda, metanol yang bersifat polar sangat efektif untuk mengekstrak metabolit sekunder yang bersifat polar seperti alkaloid dan saponin. Selain itu, perbedaan tersebut kemungkinan disebabkan oleh sampel tersebut terletak di daerah geografis yang berbeda sehingga menghasilkan metabolit sekunder yang berbeda.

Aktivitas Antioksidan Ekstrak Aseon Pucuk Iding-Iding

Berdasarkan pengukuran absorbansi terhadap DPPH 100 $\mu g/mL$ diperoleh panjang gelombang

maksimum pada 516 nm. Pengukuran absorbansi sampel selanjutnya dilakukan pada panjang gelombang tersebut. Hasil pengujian pada penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 2. Hasil pengujian ini menunjukkan bahwa semakin meningkatnya konsentrasi sampel semakin turun absorbansi DPPH. Hal ini menandakan bahwa sampel mempunyai gugus yang mudah melepas radikal bebas atom hidrogen untuk bereaksi dengan radikal bebas DPPH sehingga memberikan warna kuning. Meningkatnya konsentrasi akan menambah jumlah radikal bebas atom hidrogen yang bereaksi dengan radikal bebas DPPH sehingga menyebabkan berkurangnya senyawa DPPH yang ditandai dengan menurunnya absorbansi. Kemampuan antioksidan tersebut diukur melalui IC_{50} yang diturunkan dari persamaan linier antara inhibisi dan konsentrasi (Gambar 3.)



Gambar 3. Kurva hubungan konsentrasi dengan % inhibisi

Tabel 2. Hasil Pengujian Antioksidan Ekstrak Aseton Pucuk Iding-Iding (*Stenochlaena palustris*)

Sampel	Konsentrasi (µg/mL)	Absorbansi		% Inhibisi	Persamaan Linier	IC_{50} (µg/mL)
		Blanko	Sampel Uji			
Vitamin C	1		0,524	7,257	$y = 4,0408x + 1,1379$ $R^2 = 0,9785$	12,092
	3		0,501	11,327		
	4		0,474	16,106		
	5	0,565	0,445	21,239		
	6		0,421	25,487		
	8		0,370	34,513		
Ekstrak Aseton Pucuk Iding-Iding	1		0,499	11,681	$y = 0,6651x + 12,102$ $R^2 = 0,9775$	56,981
	5		0,478	15,398		
	8		0,473	16,283		
	10	0,565	0,465	17,699		
	15		0,426	24,602		
	25		0,39	30,973		
	50		0,317	43,894		

Kontrol positif vitamin C yang mempunyai nilai IC_{50} sebesar 12,092 µg/mL. Apabila dibandingkan dengan vitamin C, aktivitas ekstrak aseton pucuk iding-iding (*Stenochlaena palustris*) masih lebih rendah yaitu dengan IC_{50} sebesar 56,981 µg/mL. Akan tetapi nilai IC_{50} tersebut masih kurang dari 100 µg/mL, hal ini menunjukkan bahwa ekstrak aseton pucuk iding-iding mempunyai aktivitas antioksidan yang kuat. Semakin kecil nilai IC_{50} berarti semakin kuat aktivitas antioksidannya.

Aktivitas antioksidan yang kuat dari ekstrak aseton pucuk iding-iding ini disebabkan oleh adanya senyawa fenol hidrokuinon (tanin) dan flavonoid dalam ekstrak tersebut. Senyawa fenol hidrokuinon (tanin) dan flavonoid sangat baik sebagai senyawa antioksidan karena banyak mengandung gugus hidroksi fenol yang aktif sebagai penangkal radikal bebas. Akan tetapi pengujian antioksidan pada penelitian ini hanya pada ekstrak kasar aseton pucuk iding-iding, sehingga memungkinkan senyawa murni yang terkandung dalam pucuk iding-iding memiliki aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan ekstrak kasarnya.

Penggunaan metode DPPH dipilih karena metode ini sederhana, mudah, cepat dan memerlukan sedikit

sampel. Radikal DPPH akan mudah bereaksi dengan senyawa antioksidan melalui mekanisme donor atom hidrogen yang menyebabkan terjadi perubahan warna DPPH dari ungu menjadi kuning yang diukur pada panjang gelombang 517 nm (Hanani, 2005).

KESIMPULAN

Hasil penelitian ini disimpulkan bahwa ekstrak aseton pucuk iding-iding (*Stenochlaena palustris*) dari pulau Bangka mempunyai aktivitas antioksidan yang kuat. Hal tersebut karena mengandung senyawa fenol hidrokuinon (tanin), flavonoid, steroid, dan terpenoid.

DAFTAR PUSTAKA

- Achmad, S., 1986. *Kimia Organik Bahan Alam*. Jakarta: Karnunika.
- Chai, T. P. E. O. H.-C. W. F., 2012. Phenolic Contents and Antioxidant Properties of *Stenochlaena palustris*, and Edible Medicinal Fern. *Botanical Studies*, Volume 53, pp. 439-446.
- Dungir, S. K. S. L. G. R. D., 2012. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Fenolik dari Kulit Buah Manggis (*Gracinia Mangostana L.*). *Jurnal MIPA UNSTRAT Online* 1, 1(1), pp. 11-15.

- Hanani, E. M. A. S. R., 2005. Identifikasi Senyawa Antioksidan dalam Spons *Callyspongia* sp dari Kepulauan Seribu. *Majalah Ilmu kefarmasian*, Volume 2, pp. 127-133.
- Marlina, S. V. S. S., 2005. Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechium Edule* Jacq. Swartz.) dalam Ekstrak Etanol. *Biofarmasi*, 3(1), pp. 26-31.
- Marlinda, M. S. M. W. A., 2012. Analisis Senyawa Metabolit Sekunder dan Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Biji Buah Alpukat (*Persea americana* Mill.). *Jurnal Kimia Unstrat*, 1(1), pp. 24-28.
- Sangi, M. R. M. S. H., 2008. Analisis Fitokimia Tumbuhan Obat di kabupaten Minahasa Utara. *Chem.Prog.*, 1(1), pp. 47-53.
- Steenis, C. V., 1981. *Flora untuk Sekolah di Indonesia*. Jakarta: PT. Pradnya Paramita.
- Tahir, B. C. S. S. P., 2013. *Uji Fitokimia, Toksisitas dan Aktivitas Antioksidan Alami Daun Tumbuhan Kelakai (Stenochlaena palustris) dengan Metode DPPH*. Samarinda, Prosiding Seminar Nasional Kimia 2013.