

STUDI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN SENYAWA FENOLIK DALAM DAGING BUAH KEPEL (*Stelechocarpus burahol*)

SUMARTINI

Pembimbing : Dr. Nanik Siti Aminah, M.Si.

ANTIOXIDANT ; KEPEL FRUIT (*Stelechocarpus burahol*)

KKC KK TK 10 / 11 Sum s

Copyright© 2011 by Airlangga University Library Surabaya

ABSTRACT

STUDY ON ANTIOXIDANT ACTIVITY OF THE PHENOLIC COMPOUNDS IN THE FLESH OF KEPEL FRUIT (*Stelechocarpus burahol*)

This study has identified six phenolic compounds in methanol extract of the flesh of kepel fruit (*Stelechocarpus burahol*), two of which were successfully obtained as isolates. Methanol extract of the flesh of kepel fruit was obtained using the maceration method. After filtration, the filtrate was collected and concentrated to dryness under reduced pressure in a rotary evaporator to yield methanol extract and 18,76 % rendement was obtained. The phenolic compounds contained in methanol extract of the flesh of kepel fruit were analyzed under the Folin Ciocalteau method, resulting in 38,23 mg/L. Antioxidant activities tests of methanol extract of the flesh of kepel fruit were done using two methods, 2,4- DPPH radical scavenging assay and lipid peroxidation using ferric thiocyanate test. Both methods resulted that the methanol extract of the flesh of Kepel fruit has antioxidant activity. From the DPPH assay, IC₅₀ value of methanol extract of the flesh of kepel was 441,64 ppm. Separation of the chemical components in methanol extract of the flesh of kepel fruit was done using various chromatographic methods to obtain six major spots and two of which could be obtained as isolates. Analysis of the six spots using TLC scanner with UV-Vis detector produces the maximum absorption peak at $\lambda_{\text{max}} = 270\text{-}310 \text{ nm}$ which is the maximum absorption peak area/range of the phenolic compound group. Analysis of the ¹H-NMR and ¹³C-NMR spectra of the two isolates were incapable to provide clear information since both isolates still had lipid content as contaminant. However, signals in the aromatic region were observed as *para* substituted benzene ring with a hydroxyl group unit, so these two isolates were suggested as phenolic compounds.

Keywords: kepel (*Stelechocarpus burahol*), phenolic compound, 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH), lipid peroxidation, antioxidant

ABSTRAK

STUDI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN SENYAWA FENOLIK DALAM DAGING BUAH KEPEL (*Stelechocarpus burahol*)

Pada penelitian ini telah diidentifikasi enam senyawa fenolik dalam ekstrak metanol daging buah kepel (*Stelechocarpus burahol*) dan dua diantaranya berhasil diperoleh sebagai isolat. Ekstrak metanol dari daging buah kepel diperoleh dengan metode maserasi. Filtrat hasil maserasi selanjutnya dievaporasi hingga diperoleh ekstrak kental metanol. Rendemen yang didapatkan sebesar 18,76 %. Kandungan senyawa golongan fenolik dianalisis menggunakan metode *Folin Ciocalteau* dan diperoleh hasil sebesar 38,23 mg/L. Uji aktivitas antioksidan terhadap ekstrak metanol daging buah kepel dilakukan dengan dua metode yaitu uji peredaman radikal bebas dengan pereaksi DPPH dan uji lipid peroksida dengan metode besi(III)tiosianat. Dari hasil yang diperoleh dengan kedua metode tersebut diketahui bahwa ekstrak metanol daging buah kepel memiliki aktivitas antioksidan. Nilai IC₅₀ dari ekstrak methanol daging buah kepel melalui uji peredaman radikal bebas DPPH diperoleh sebesar 441,64 ppm. Pemisahan dari komponen-komponen kimia dalam ekstrak metanol daging buah kepel dilakukan dengan berbagai metode kromatografi hingga diperoleh enam noda utama dan dua diantaranya dapat diperoleh sebagai isolat. Analisis keenam noda tersebut menggunakan TLC scanner dengan detektor UV-Vis menghasilkan puncak serapan maksimum pada $\lambda_{\text{maks}} = 270\text{-}310$ nm yang merupakan daerah puncak serapan maksimum senyawa golongan fenolik. Elusidasi struktur dilakukan terhadap kedua isolat tersebut menggunakan metode spektroskopi ¹H-NMR dan ¹³C-NMR. Analisis terhadap spektra yang dihasilkan kurang dapat memberikan informasi karena kedua isolat masih memiliki kandungan lemak yang cukup tinggi, namun demikian masih tampak adanya sinyal-sinyal pada daerah aromatik, sehingga berdasarkan data yang berhasil dianalisis hanya dapat diduga adanya unit para substitusi benzena dengan satu gugus hidroksil pada struktur kedua isolat tersebut.

Kata kunci : kepel (*Stelechocarpus burahol*), senyawa fenolik, 1,1-Diphenyl-2-picrylhidrazil (DPPH), lipid peroksida, antioksidan

SUMMARY

STUDY ON ANTIOXIDANT ACTIVITY OF THE PHENOLIC COMPOUNDS IN THE FLESH OF KEPEL FRUIT (*Stelechocarpus burahol*)

Stelechocarpus burahol (kepel, Indonesia) is belong to the Annonaceae family. Kepel is one of the Indonesian original fruits that scarcely exist. Traditionally, it is known that consuming the flesh of kepel fruit may produce nice fragrance of sweat, breath, urine, and also as temporary pregnancy prevention. Recently, it has been reported that flavonoid compound of kepel's leaves has been successfully isolated and identified as 3,7,3',4'-tetrahydroxy-5-methyl flavonoid. A phenanthrene lactam from the stem bark was also isolated and identified as 10-amino-3,4,8- trimethoxyphenanthrene acid which has cytotoxic activities against leukimia L1210 mouse cells *in vitro*. Antioxidant activity of ethanol extract from the flesh fruit, leaf, flower, and stem bark has been also reported.

The purpose of this research is to isolate and identify of phenolic compound of the methanol extract from *Stelechocarpus burahol* flesh fruit and its antioxidant activity from the methanol extract. Total phenolic contents of the methanol extract was determined by *Folin Ciocalteau* method and was found to contain the amount 38,23 mg/L of phenolic. The antioxidant activity of the methanol extract was tested by 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) and *ferric thiocyanate* (FTC). The extract exhibited IC₅₀ value 441,64 mg/L for DPPH radical scavenging activity and also exhibited antioxidant activity using FTC test. Separation of chemical components in methanol extract of the flesh of kepel fruit was done using various chromatographic methods to obtain six major spots and two of which could be obtained as isolate. Analysis of the six spots using TLC scanner with UV-Vis detector produces the maximum absorption peak at $\lambda_{\text{max}} = 270-310$ nm which is the maximum absorption peak range of the phenolic compound group. Structure elucidation of the two isolates obtained by using ¹H-NMR and ¹³CNMR. The complete structure of the two isolates could not be obtained from the ¹H NMR and ¹³C NMR spectra since both isolates still had high lipid content as contaminant. However, signals in the aromatic region were observed as para substituted benzene ring with a hydroxyl group unit on both these isolates. Methanol extracts of the flesh of kepel fruit has antioxidant activity, because its phenolic compounds content. The structure of the phenolic compound had not been able to be reported completely but a unit of para benzene substituted with one hydroxy group were predicted. Therefore it could be suggested that kepel fruit could be consumed as a good antioxidant supplement to replace synthetic antioxidants which were suspected to have negative effects for health.

RINGKASAN

STUDI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN SENYAWA FENOLIK DALAM DAGING BUAH KEPEL (*Stelechocarpus burahol*)

Tumbuhan kepel (*Stelechocarpus burahol*) sebagai salah satu tumbuhan buah yang mulai langka, secara tradisional telah dikenal memiliki beberapa manfaat yaitu sebagai peluruh kencing, mencegah radang ginjal, deodorant serta alat KB sementara. Penelitian terdahulu dari bagian-bagian tumbuhan kepel ini telah melaporkan adanya kandungan senyawa kimia beserta bioaktivitasnya. Pada bagian daun telah berhasil diisolasi dan diidentifikasi senyawa flavonoid yaitu 3,7,3',4'-tetrahidroksi-5 metil flavon dan uji aktivitas antioksidan fraksi etanolnya (Sunarni dkk, 2007). Dari kulit batang tumbuhan kepel berhasil diisolasi dan diidentifikasi senyawa alkaloid fenantren laktam yaitu asam 10-amino-3,4,8- trimetoksifenantren-1-karboksilat laktam yang mempunyai aktivitas sitotoksik terhadap sel leukemia tikus L1210 (Sunardi dkk, 2003). Dari uji DPPH terhadap ekstrak etanol bagian buah, daun, bunga, dan kulit batang diketahui bahwa aktivitas antioksidan tertinggi diperoleh pada bagian buah dan bunga (Tisnadjaja dkk, 2006). Penelitian ini bertujuan untuk melakukan uji aktivitas antioksidan terhadap ekstrak metanol daging buah kepel dan mengisolasi serta mengidentifikasi senyawa fenolik dalam ekstrak metanol tersebut. Hasil yang diperoleh diharapkan dapat menaikkan nilai ekonomis dari tanaman kepel, sehingga dapat menarik minat masyarakat untuk

membudidayakan. Kandungan fenolik total dalam ekstrak metanol daging buah kepel ditentukan dengan metode Folin Ciocalteau dan hasil yang diperoleh sebesar 38,23 mg/L. Uji aktivitas antioksidan dari ekstrak metanol daging buah kepel dilakukan dengan dua metode yaitu peredaman radikal bebas dengan reaksi DPPH dan uji lipid peroksida dengan metode besi(III)tiosianat. Dari uji dengan reaksi DPPH, menggunakan asam askorbat sebagai standar, diperoleh nilai IC₅₀ dari ekstrak metanol daging buah kepel sebesar 441,64 ppm sehingga dapat dikategorikan sebagai antioksidan, sedangkan uji lipid peroksida menunjukkan bahwa ekstrak metanol daging buah kepel memiliki aktivitas antioksidan walaupun lebih lemah daripada *butylated hydroxytoluene* (BHT) yang digunakan sebagai standar. Pemisahan komponen-komponen kimia dalam ekstrak metanol daging buah kepel dilakukan dengan berbagai teknik kromatografi. Hasil dari proses pemisahan ini diperoleh enam noda utama senyawa fenolik dan dua diantaranya diperoleh sebagai isolat. Keenam noda tersebut dianalisis menggunakan TLC scanner dengan detektor UV-Vis dan diperoleh puncak serapan maksimum pada $\lambda_{\text{maks}} = 270-320$ nm yang sesuai dengan puncak serapan maksimum dari senyawa golongan fenolik. Elusidasi struktur dari kedua isolat yang diperoleh dilakukan dengan menggunakan metode spektroskopi ¹H-NMR dan ¹³C-NMR. Struktur lengkap dari kedua isolat tidak dapat diperoleh karena kedua isolat masih mengandung lemak dengan kadar yang cukup tinggi. Namun demikian masih tampak adanya sinyal-sinyal pada daerah aromatik, sehingga berdasarkan data yang berhasil dianalisis dapat diduga adanya unit *para* substitusi benzena dengan satu gugus hidroksi. Kesimpulan yang diperoleh dari penelitian ini adalah bahwa ekstrak metanol daging buah kepel mempunyai aktivitas antioksidan. Hal ini diduga karena adanya kandungan senyawa fenolik dalam ekstrak tersebut. Isolat yang berhasil diperoleh merupakan senyawa fenolik, tetapi struktur dari senyawa fenolik tersebut belum dapat dilaporkan secara lengkap. Oleh sebab itu disarankan agar buah kepel dapat dikonsumsi sebagai makanan tambahan antioksidan alamiah bagi kesehatan tubuh. Selain itu juga disarankan untuk mencari prosedur yang tepat untuk memisahkan lemak dari isolat sehingga isolat dapat ditentukan strukturnya.