

POTENSI ANTIOKSIDAN EKSTRAK TUMBUHAN *Saraca declinata* (Jack) Miq.

Kartika Dyah Palupi*, Lukman Hafid, Andi Saptaji Kamal

Pusat Penelitian Bahan Baku Obat dan Obat Tradisional, Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN). KST Soekarno-BRIN.

Jalan Raya Jakarta-Bogor Km. 46, Cibinong, Kab. Bogor 16911, Jawa Barat

*e-mail korespondensi:

*kart009@brin.go.id

lukm004@brin.go.id

andi018@brin.go.id

Abstrak. *Saraca declinata* (Jack) Miq. adalah tumbuhan asli Indonesia dengan morfologi menyerupai *Saraca asoca* (Roxb.) W.J.de Wilde yang merupakan tumbuhan asli Pakistan, Myanmar dan Sri Lanka. *Saraca asoca* (Roxb.) W.J.de Wilde telah banyak diteliti dan digunakan dalam pengobatan Ayuverda. Namun demikian, informasi tentang kegunaan dan bioaktivitas *Saraca declinata* (Jack) Miq. masih sangat terbatas. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui bioaktivitas ekstrak *Saraca declinata* (Jack) Miq. sebagai antioksidan. Bunga, batang, dan daun *Saraca declinata* (Jack) Miq. dikeringkan, digiling dan diekstraksi secara bertingkat menggunakan pelarut *n*-heksana, diklorometana, etil asetat, dan metanol. Ekstrak kering dari masing-masing sampel kemudian diuji aktivitas antioksidannya dengan metode mikrodilusi terhadap radikal bebas 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH). Aktivitas antioksidan dari masing-masing sampel juga diuji dengan teknik bioautografi menggunakan kromatografi lapis tipis. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak metanol batang dan daun *Saraca declinata* (Jack) Miq. memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat dengan nilai 4.6 dan 2.56 µg/mL. Tumbuhan *Saraca declinata* (Jack) Miq. sangat potensial untuk dikembangkan lebih lanjut sebagai agen antioksidan maupun sebagai sumber senyawa-senyawa antioksidan.

Kata kunci: Peredaman radikal bebas, *Saraca merah*, tumbuhan obat Indonesia.

Abstract. *Saraca declinata* (Jack) Miq. is a native Indonesian plant that has the morphology similar to *Saraca asoca* (Roxb.) W.J.de Wilde which is native to Pakistan, Myanmar, and Sri Lanka. *Saraca asoca* (Roxb.) W.J.de Wilde has been widely used in Ayurvedic medicine and many studies have revealed its bioactivity. However, information about the bioactivity and phytochemistry of *Saraca declinata* (Jack) Miq. is still limited. For this reason, this present study is aimed to explore the bioactivity of *Saraca declinata* (Jack) Miq., especially its antioxidant effect. Flowers, stems, and leaves of *Saraca declinata* (Jack) Miq. were dried, grinded, and extracted using *n*-hexane, dichloromethane, ethyl acetate, and methanol, successively. Dried extracts were evaluated for their antioxidant activity against free radical 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) using microdilution method. Further evaluation on the chemical profile and the antioxidant activity were also done using TLC-bioautography technique. Results showed that the stem and leaf methanol extract of *Saraca declinata* (Jack) Miq. had very strong antioxidant activities with IC₅₀ value of 4.6 dan

2.56 $\mu\text{g}/\text{m}$. *Saraca declinata* (Jack) Miq. has a high potency to be developed as antioxidant agent or as the source of active antioxidant compounds.

Key Words: Free radical scavenger, red *Saraca*, Indonesian medicinal plant

PENDAHULUAN

Indonesia sebagai negara tropis memiliki biodiversitas yang sangat beragam, baik biodiversitas tumbuhan, hewan, maupun mikroba. Hingga saat ini masih banyak potensi farmakologis dari biodiversitas ini yang belum diteliti lebih jauh. Salah satu tumbuhan yang merupakan tumbuhan asli Indonesia yang belum dipelajari lebih jauh adalah *Saraca declinata* (Jack) Miq.

Saraca declinata (Jack) Miq. adalah tumbuhan asli Indonesia yang berasal dari familia Fabaceae. Persebaran tumbuhan ini ada di daerah tropis basah meliputi Kalimantan (Borneo), Kamboja, Jawa, Laos, Kepulauan Sunda Kecil, Myanmar, Malaysia, Papua Nugini, Sumatera, Thailand dan Vietnam. Tumbuhan ini sangat mirip dengan *Saraca asoca* (Roxb.) W.J.de Wilde yang merupakan tumbuhan asli Pakistan, Myanmar, dan Sri Lanka. *Saraca asoca* (Roxb.) W.J.de banyak digunakan dalam pengobatan Ayuverda untuk mengatasi pendarahan pada rahim, masalah kandungan, sakit perut, menstruasi yang tidak teratur, diabetes, dan lain-lain (Sulaiman et al., 2020). Dalam catatan-catatan pengobatan Ayuverda terdapat 50 lebih resep menggunakan kulit batang dari *Saraca asoca* (Roxb.) W.J.de. Obat Ayuverda yang banyak digunakan seperti *Ashokarishta* dan *Ashokaghrita*, disiapkan menggunakan kulit batang dari tumbuhan ini (Sulaiman et al., 2020). Tumbuhan ini memiliki aktivitas antioksidan yang sangat potensial karena kandungan senyawa fenolatnya meliputi asam-asam fenolat dan juga flavonoid (Sadhu et al., 2007; Saha et al., 2013; Tewari et al., 2017).

Tidak seperti *Saraca asoca* (Roxb.) W.J.de Wilde yang telah banyak diteliti secara fitokimia maupun efek farmakologisnya, informasi mengenai *Saraca declinata* (Jack) Miq. masih sangat terbatas. Informasi mengenai tumbuhan ini baru berupa informasi mengenai taksonomi dan persebarannya. Berdasarkan pendekatan kemotaksonomi, tumbuhan pada satu familia dapat memiliki kandungan senyawa yang mirip sehingga dapat memiliki bioaktivitas yang mirip, oleh karena itu, pada penelitian ini dilakukan uji pendahuluan untuk mengetahui aktivitas antioksidan dari *Saraca declinata* (Jack) Miq.

BAHAN DAN METODE

Bahan tumbuhan

Bunga, batang, dan daun *Saraca declinata* (Jack) Miq. di koleksi di kawasan Cibinong, Kabupaten Bogor, Jawa Barat, Indonesia. Identifikasi tumbuhan dilakukan di Herbarium Bogoriensi, Badan Riset dan Inovasi Nasional.

Pembuatan ekstrak

Bunga, batang, dan daun *Saraca declinata* (Jack) Miq. dikering anginkan dan dihaluskan. Serbuk kering dari masing-masing bagian tumbuhan diekstraksi secara bertingkat menggunakan *n*-heksana, diklorometana, etil asetat, dan metanol secara berturut turut. Serbuk simplisia diekstrak sebanyak dua kali menggunakan jenis pelarut yang sama sebelum diekstrak dengan pelarut dengan tingkat kepolaran lebih tinggi. Masing-masing ekstrak dikeringkan dengan rotary evaporator RV 8 (IKA, Jerman) dan lebih lanjut dikeringkan dengan gas nitrogen.

Ekstrak disimpan pada suhu -20°C sampai digunakan kembali untuk analisis.

Uji aktivitas antioksidan dengan metode mikrodilusi

Penentuan IC_{50} aktivitas antioksidan masing-masing ekstrak dilakukan terhadap radikal bebas DPPH dengan menggunakan metode mikrodilusi (Gambar 1) seperti yang telah dijabarkan sebelumnya (Praptiwi *et al.*, 2020). Secara singkat, $5\ \mu\text{L}$ senyawa induk dari masing-masing ekstrak dengan konsentrasi $10240\ \mu\text{g}/\text{mL}$ dalam DMSO dimasukkan ke 3 sumuran *96-well plate* berisi $95\ \mu\text{L}$ metanol pro analisis dan dibuat serial konsentrasinya (8 serial konsentrasi).

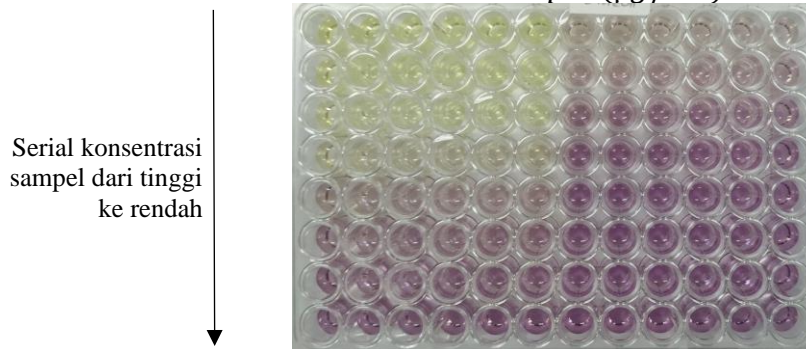
Setelah itu, $100\ \mu\text{L}$ DPPH ($61.5\ \mu\text{g}/\text{mL}$) ditambahkan pada masing-masing sumuran dan diinkubasi dalam ruangan gelap pada suhu ruangan selama 90 menit. Absorbansi diukur dengan menggunakan microplate reader Varioskan (Thermo Fisher, USA) pada panjang gelombang $517\ \text{nm}$. Konsentrasi akhir dari ekstrak pada sumuran adalah $2 - 256\ \mu\text{g}/\text{mL}$. Sebagai blangko digunakan metanol pro analisis dan DPPH $37.5\ \mu\text{g}/\text{mL}$ sebanyak $200\ \mu\text{g}/\text{mL}$ digunakan sebagai kontrol. Katekin digunakan sebagai kontrol positif. Persen inhibisi diperhitungkan dengan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{absorbansi kontrol (DPPH)} - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi DPPH}} \times 100\%$$

Kekuatan dari aktivitas antioksidan diindikasikan sebagai nilai indeks aktivitas antioksidan (IAA), seperti yang telah

dijabarkan sebelumnya (Scherer & Godoy, 2009). Nilai IAA dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\text{IAA} = \frac{\text{Konsentrasi akhir DPPH dalam sumuran } (\mu\text{g}/\text{mL})}{\text{IC}_{50} \text{ sampel } (\mu\text{g}/\text{mL})}$$



Gambar 1. Evaluasi aktivitas antioksidan dengan metode mikrodilusi.

Analisis profil fitokimia dan aktivitas antioksidan ekstrak dengan teknik KLT-bioautografi

Masing-masing sampel ekstrak ditimbang dan dilarutkan dengan pelarut yang sesuai hingga didapatkan larutan sampel dengan konsentrasi $10\ \text{mg}/\text{mL}$. Sebanyak $10\ \mu\text{L}$ sampel, ditotolkan pada plat KLT *silica gel* GF254 dan dielusi dengan

menggunakan fase gerak yang telah ditentukan. Ekstrak *n*-heksana dielusi dengan menggunakan campuran *n*-heksana –etil asetat (3:1), ekstrak diklorometana dan etil asetat dielusi menggunakan campuran diklorometana–metanol (10:1), dan terakhir ekstrak metanol dielusi dengan menggunakan campuran kloroform–metanol –air (6:4:1). Bercak senyawa pada KLT dilihat dengan

menggunakan sinar UV 254 nm, sinar UV 366 nm, dan pereaksi semprot vanillin – asam asetat (dengan pemanasan). Untuk melihat profil bioautografi dari ekstrak, setelah 10 µl sampel ekstrak (10 mg/ml) ditotolkan pada plat KLT *silica gel* GF254, plat KLT disemprot dengan menggunakan larutan DPPH 0.2% dalam metanol pro analisis.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Saraca declinata (Jack) Miq. adalah tumbuhan asli Indonesia yang informasinya masih berupa informasi taksonomi dan juga persebarannya. Informasi mengenai aktivitas

biologis maupun fitokimianya belum pernah dipublikasikan. Pada penelitian ini, 12 ekstrak dari bunga, batang, dan daun *Saraca declinata* (Jack) Miq. (Gambar 2) dievaluasi. Ekstrak didapatkan dengan mengekstraksi serbuk simplisia secara bertingkat menggunakan pelarut dengan kepolaran rendah hingga tinggi. Hal ini dilakukan untuk melihat kepolaran dari senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan. Secara berturut-turut, kepolaran pelarut yang digunakan pada penelitian ini dari kepolaran yang paling rendah hingga tinggi adalah *n*-heksana (non-polar), diklorometana (semi polar), etil asetat (semi polar), dan metanol (polar).



Gambar 2. Profil tumbuhan *Saraca declinata* (Jack) Miq.

Hasil uji aktivitas antioksidan terhadap radikal bebas DPPH (Tabel 1) menunjukkan bahwa ekstrak metanol yang merupakan ekstrak polar dari batang dan daun *Saraca declinata* (Jack) Miq. memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat dengan nilai IAA 6.68 dan 12.02, secara berturut-turut. Semakin rendah kepolaran pelarut yang digunakan, kekuatan aktivitas antioksidannya juga makin lemah. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa-senyawa yang bertanggung

jawab terhadap aktivitas antioksidan tumbuhan *Saraca declinata* (Jack) Miq. adalah senyawa-senyawa yang cenderung polar (semi polar hingga polar). Penelitian-penelitian sebelumnya juga menunjukkan hasil yang serupa. Penelitian oleh Oboh *et al.*, (2008) menyebutkan bahwa ekstrak polar dari berbagai beberapa sayuran yang diteliti yaitu *Struchium sparganophora*, *Amaranthus cruentus*, *Telfairia occidentalis*, *Ocimum gratissimum*, *Talinium triangulare*,

Cnidoscoulous aconitifolius and *Vernonia amygdalina* memiliki aktivitas antioksidan

lebih tinggi dibanding dengan ekstrak non-polarnya.

Tabel 1. Aktivitas antioksidan ekstrak *Saraca declinata* (Jack) Miq.

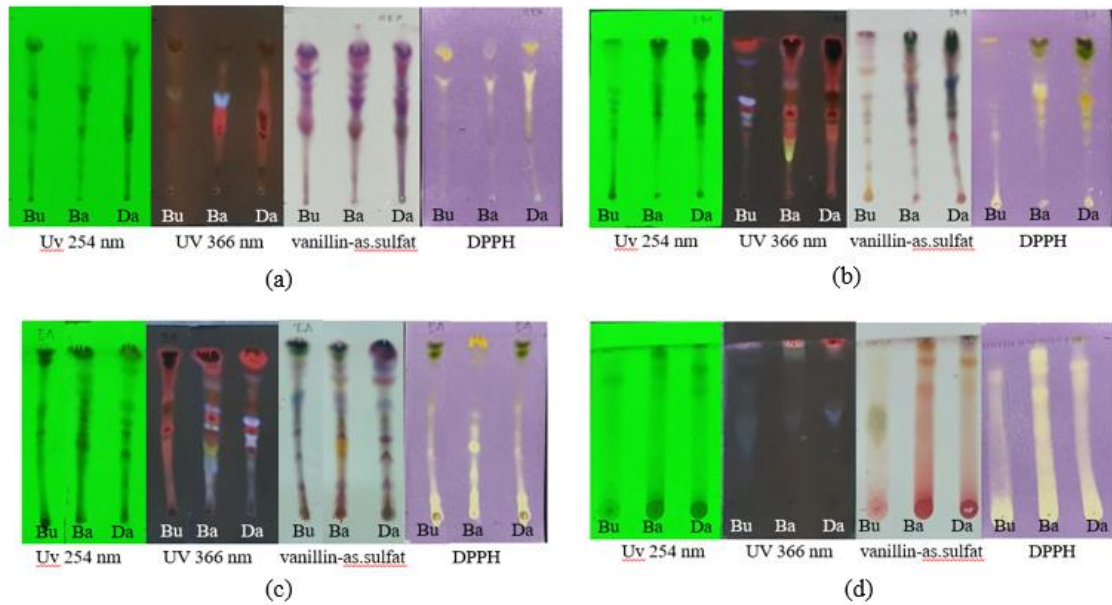
| Ekstrak <i>Saraca declinata</i> (Jack) Miq. | IC ₅₀ terhadap DPPH (µg/mL) | IAA | Klasifikasi kekuatan antioksidan |
|--|---|-------|--|
| Ekstrak n-heksana bunga | >256 | <0.2 | Lemah |
| Ekstrak n-heksana batang | >256 | <0.2 | Lemah |
| Ekstrak n-heksana daun | >256 | <0.2 | Lemah |
| Ekstrak diklorometana bunga | 124.43 | 0,25 | Lemah |
| Ekstrak diklorometana batang | >256 | <0.2 | Lemah |
| Ekstrak diklorometana daun | >256 | <0.2 | Lemah |
| Ekstrak etil asetat bunga | 51,53 | 0,60 | Sedang |
| Ekstrak etil asetat batang | 15,41 | 2,00 | Kuat |
| Ekstrak etil asetat daun | 24,80 | 1,24 | Kuat |
| Ekstrak metanol bunga | 22,83 | 1,35 | Kuat |
| Ekstrak metanol batang | 4,60 | 6,68 | Sangat Kuat |
| Ekstrak metanol daun | 2,56 | 12,02 | Sangat Kuat |
| Katekin | 1.5 | | |

Klasifikasi IAA: lemah jika IAA < 0.5, moderat jika IAA 0.5 - ≤1, kuat jika IAA >1 dan ≤2, dan sangat kuat jika IAA >2 (Scherer & Godoy, 2009).

Senyawa antioxidant alami dari tumbuhan biasanya berupa vitamin, karotenoid, dan polifenol (asam fenolik, flavonoid, stilbene, dan lain-lain) (Xu *et al.*, 2017). Senyawa-senyawa fenolik umumnya merupakan senyawa polar yang terekstrak dengan pelarut polar seperti metanol, etanol dan air. Sedangkan karotenoid adalah antioksidan yang lipofilik yang mudah diekstraksi dengan pelarut non-polar seperti n-heksana. Penelitian oleh (Nawaz *et al.*, 2020) menyebutkan bahwa meskipun kadar total fenol dan total flavonoid dari ekstrak polar *Phaseolus vulgaris* lebih rendah tinimbang ekstrak polarnya, ekstrak polar dari *Phaseolus vulgaris* memiliki aktivitas antioksidan yang lebih tinggi. Hasil yang hampir sama juga dapat dilihat pada ekstrak polar dari biji *Carica papaya* (Insanu *et al.*, 2022) dan dua spesies *Achillea* (Kaczorová *et al.*, 2021). Hal ini mungkin terjadi karena

meskipun dalam jumlah lebih sedikit, senyawa-senyawa polar yang terekstrak di pelarut polar memiliki aktivitas antioksidan yang lebih tinggi. Oleh karena itu perlu dievaluasi lebih jauh senyawa yang bertanggung jawab dengan isolasi senyawa.

Pada penelitian pendahuluan kali ini, senyawa-senyawa yang bertanggung jawab terhadap aktivitas antioksidan *Saraca declinata* (Jack) Miq. dievaluasi dengan menggunakan KLT-bioautografi. Hasil menunjukkan bahwa ekstrak metanol mengandung senyawa-senyawa antioksidan yang lebih kentara (bercak kuning dengan background ungu) dibanding dengan ekstrak-ekstrak lainnya (Gambar 3). Hasil profil bioautografi ini dapat digunakan sebagai petunjuk untuk senyawa-senyawa mana yang dapat diisolasi untuk mendapatkan senyawa yang bertanggungjawab terhadap aktivitas antioksidan dari *Saraca declinata* (Jack) Miq



Gambar 3 Hasil KLT dan bioautogram aktivitas antioksidan ekstrak (a) *n*-heksana, (b) diklorometana, (c) etil asetat, dan (d) metanol bunga (Bu), batang (Ba), dan daun (Da) ekstrak *Saraca declinata* (Jack) Miq.

SIMPULAN

Saraca declinata (Jack) Miq. adalah salah satu tumbuhan Indonesia yang informasi mengenai potensi farmakologisnya masih sangat terbatas. Penelitian pendahuluan ini menunjukkan bahwa metanol merupakan pelarut terbaik untuk mendapatkan senyawa antioksidan yang sangat kuat dari *Saraca declinata* (Jack) Miq. Senyawa polar dari *Saraca declinata* (Jack) Miq. sangat potensial untuk dikembangkan lebih lanjut sebagai agen antioksidan. Penelitian lebih lanjut diperlukan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi senyawa yang bertanggung jawab terhadap aktivitas antioksidan *Saraca declinata* (Jack) Miq.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Badan Riset dan Inovasi Nasional atas dukungan fasilitas yang diberikan selama penelitian ini berlangsung.

DAFTAR PUSTAKA

- Insanu, M., Nayaka, N. M. D. M. W., Solihin, L., Wirasutisna, K. R., Pramastya, H., & Fidrianny, I. (2022). Antioxidant activities and phytochemicals of polar, semi-polar, and nonpolar extracts of used and unused parts of *Carica papaya* fruit. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 39, 102270. <https://doi.org/10.1016/J.BCAB.2021.102270>
- Kaczorová, D., Karalija, E., Dahija, S., Bešta-Gajević, R., Parić, A., & Čavar Zeljković, S. (2021). Influence of extraction solvent on the phenolic profile and bioactivity of two *Achillea* Species. *Molecules* 2021, Vol. 26, Page 1601, 26(6), 1601.
- Nawaz, H., Nawaz, H., Aslam Shad, M., Rehman, N., Andaleeb, H., & Ullah, N. (2020). Effect of solvent polarity on extraction yield and antioxidant properties of phytochemicals from bean (*Phaseolus vulgaris*) seeds. *J. Pharm.*

- Sci*, 56, 17129. <https://doi.org/10.1590/s2175-97902019000417129>
- Oboh, G., Raddatz, H., & Henle, T. (2008). Antioxidant properties of polar and non-polar extracts of some tropical green leafy vegetables. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 88(14), 2486–2492. <https://doi.org/10.1002/JSFA.3367>
- Praptiwi, P., Dewi Wulansari, Ahmad Fathoni, Noto Hartono, Rossi Novita, Alfridsyah, & Andria Augusta. (2020). Phytochemical screening, antibacterial and antioxidant assessment of *Leuconotis eugenifolia* leaf extract. *Nusantara Bioscience*, 12(1), 79–85. <https://doi.org/10.13057/nusbiosci/n120114>
- Sadhu, S. K., Khatun, A., Phattanawasin, P., Ohtsuki, T., & Ishibashi, M. (2007). Lignan glycosides and flavonoids from *Saraca asoca* with antioxidant activity. *Journal of Natural Medicines*, 61(4), 480–482. <https://doi.org/10.1007/S11418-007-0182-3/Tables/1>
- Saha, J., Mukherjee, S., Gupta, K., & Gupta, B. (2013). High-performance thin-layer chromatographic analysis of antioxidants present in different parts of *Saraca asoca* (Roxb.) de Wilde. *Journal of Pharmacy Research*, 7(9), 798–803. <https://doi.org/10.1016/J.JOPR.2013.10.004>
- Scherer, R., & Godoy, H. T. (2009). Antioxidant activity index (AAI) by the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method. *Food Chemistry*, 112(3), 654–658. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2008.06.026>
- Sulaiman, C. T., Jyothi, C. K., Jinu Krishnan Unnithan, G., Prabhukumar, K. M., & Balachandran, I. (2020). Identification of validated substitute for Asoka (*Saraca asoca* (Roxb.) Willd.) by phytochemical and pharmacological evaluations. *Future Journal of Pharmaceutical Sciences 2020 6:1*, 6(1), 1–11. <https://doi.org/10.1186/S43094-020-00024-2>
- Tewari, R., Gupta, M., Ahmad, F., Rout, P. K., Misra, L., Patwardhan, A., & Vasudeva, R. (2017). Extraction, quantification and antioxidant activities of flavonoids, polyphenols and pinitol from wild and cultivated *Saraca asoca* bark using RP-HPLC-PDA-RI method. *Industrial Crops and Products*, 103, 73–80. <https://doi.org/10.1016/J.INDCROP.2017.03.036>
- Xu, D. P., Li, Y., Meng, X., Zhou, T., Zhou, Y., Zheng, J., Zhang, J. J., & Li, H. Bin. (2017). Natural Antioxidants in Foods and Medicinal Plants: Extraction, Assessment and Resources. *International Journal of Molecular Sciences 2017, Vol. 18, Page 96, 18(1)*, 96. <https://doi.org/10.3390/IJMS18010096>