

POTENSI TUMBUHAN AKAR TAPAK KUDA (*BAUHINIA HULLETTII* PRAIN) SEBAGAI SUMBER SENYAWA ANTIOKSIDAN

Lenny Anwar^{1*}, Jhon Azmi¹, Herdini¹

¹Jurusan Pendidikan MIPA, Fakultas FKIP, Universitas Riau, Pekanbaru

* Prodi Pendidikan Kimia, Kampus Bina Widya KM 12,5 Simpang Baru, Pekanbaru, Telp./Faks.
(0761) 63267 / (0761) 658084, E-mail : lenny_an_war@yahoo.com.

ABSTRAK

Akar tapak kuda (Bauhinia hullettii Prain) merupakan tumbuhan dari genus Bauhinia yang banyak dijumpai di Indonesia. Tumbuhan Bauhinia dilaporkan kaya akan senyawa flavonoid dan stilbenoid. Dua senyawa flavanon (1 dan 2) dan senyawa fenolik (3) terdapat pada kulit batang dan daun akar tapak kuda. Uji aktivitas antioksidan dari tiga senyawa terhadap radikal DPPH menunjukkan aktifitas antioksidan yang sangat kuat untuk senyawa 1 (5,7,3',5'-tetrahidroksi flavanon) dan 3 (asam 3,4,5-trihidroksibenzoat). Senyawa 2 (5,7,4'-trihidroksi-6-metilflavanon) tidak aktif sebagai antioksidan dengan IC₅₀>1000 µg/mL. Senyawa 1 dan 3 diketahui lebih aktif daripada Vitamin C dengan IC₅₀ masing-masing 6,33 dan 1,26 µg/mL.

Kata Kunci: Bauhinia hullettiiPrain, flavonoid, fenolik, aktivitas antioksidan

PENDAHULUAN

Bauhinia merupakan salah satu genus utama dari famili Leguminosae, terdiri dari 300 spesies dan tumbuh didaerah tropis dan subtropis. Di Indonesia tumbuhan *Bauhinia* hanya terdiri dari 12 spesies (Heyne, 1987). Studi farmakologi menunjukkan bahwa spesies *Bauhinia* memiliki aktifitas sebagai antikanker (Gupta *et al.*, 2004; Pettit *et al.*, 2006; Yuenyongsawad *et al.*, 2013), antioksidan (Aliyu *et al.*, 2009; Bhaskar dan Avadhani, 2012; Krishnaveni, 2014), hipoglikemia (Menezes *et al.*, 2007), hiperlipidemia (Laksi *et al.*, 2011), antivirus (Santos *et al.*, 2014), antiinflamasi (Muhammad dan Sirait, 2013), antimikroba (Kumar *et al.*, 2005; Dahikar *et al.*, 2011; Gunalan *et al.*, 2011), gastroprotektif (Kamarolzaman, 2014), antiulcer (Borikar *et al.*, 2009a) dan analgesik (Borikar *et al.*, 2009b).

Tumbuhan *Bauhinia* dilaporkan mengandung senyawa flavonoid, kumarin, tannin, terpenoid (Murugan *et al.*, 2011), sianoglikosida (Muhammad dan Sirait, 2013), steroid (Jash *et al.*, 2014), kuinon (Pettit *et al.*, 2013) dan fenolik (Pettit *et al.*, 2013; Murugan *et al.*, 2011; Jain *et al.*, 2008). Senyawa flavonoid merupakan metabolit sekunder yang paling banyak dijumpai seperti yang diisolasi dari *B. Purpurea* yaitu bis[3'4'-dihidroksi-6-metoksi-7,8-furano-5',6'-monometil-alliloksi]-5-C-5-biflavonil dan 4'-hidroksi-7-metil 3-C- α -L-ramnopiranosil-5-C-5-(4'-hidroksi-7-metil-3-C- α -D-glukopiranosil) biflavonoid (Yadav dan Bhadoria, 2005), kuersetin-3-O-rutinosid dan kuersetin dari *Bauhinia monandra* (Aderogba *et al.*, 2006), lupeol, kaemferol dan kuersetin dari kulit batang *B. Variegata* (Santos *et al.*, 2014), 6C,7-O-dimetilaromadendrin dan ploreitin dari batang *B. excelsa* (Tanjung dan Tjahjandarie,

2014). Senyawa flavonoid juga disolasi dari kulit batang *B.strychnifolia* yaitu 3,5,7,3',5'-pentahidroksi flavanonol-3-O- α -L-ramnopiranosida dan kuersetin (Yuengyongsawad *et al.*, 2013), kuersetin-3-O- α -arabinosa, kuersetin, kuersetin-3-O- α -ramnosida, kuersetin-3-O- β -glukosida dan kuersetin-3-O- β -galaktopiranosida dari daun *B. Longifolia* (Santos *et al.*, 2014). Senyawa kuersetin hampir dijumpai pada setiap spesies *Bauhinia*.

Senyawa flavonoid diketahui mempunyai berbagai aktifitas biologis yang penting. Kuersetin dan turunannya untuk pertamakali dilaporkan aktifitasnya sebagai antivirus (Santos *et al.*, 2014) sedangkan senyawa 3,5,7,3',5'-pentahidroksiflavanonol-3-O- α -L-ramnopiranosida dilaporkan mempunyai aktifitas antikanker terhadap sel uji (sel KB, HT-29, MCF-7 dan HeLa). Aktifitas antikanker senyawa ini lebih kuat daripada kontrol yaitu camptothecin yang digunakan sebagai obat antikanker (Yuengyongsawad *et al.*, 2013). Kuersetin-3-O-rutinosida dan kuersetin juga mempunyai aktivitas antioksidan dan antidiabetes. Kuersetin mempunyai aktivitas antioksidan lebih tinggi daripada Kuersetin-3-O-rutinosida (Aderogba *et al.*, 2006).

Salah satu spesies *Bauhinia* yang tumbuh di Sumatera adalah *Bauhinia hullettii* Prain yang dikenal dengan nama akar tapak kuda. Pada makalah ini akan dilaporkan aktifitas antioksidan dari senyawa yang telah diisolasi dari kulit batang dan daun akar tapak kuda menggunakan metode DPPH yang berdasarkan pada kemampuan suatu senyawa dalam meredam radikal DPPH (Zhang *et al.*, 2006).

BAHAN DAN METODE

Bahan

Bahan tumbuhan berupa kulit batang dan daun *B. hullettii* Prain dikumpulkan dari Hutan lindung PT. Bukit Asam TanjungEnim Sumatera Selatan pada bulan Januari 2013. Spesimen tumbuhan ini diidentifikasi di Herbarium Universitas Andalas (ANDA), Padang. Bahan kimia yang digunakan terdiri dari : *n*-heksan, etil asetat, diklorometan, metanol, silika gel Merck 60 GF₂₅₄ (230-400 mesh), silika gel Merck 60 G (70-230 Mesh), plat aluminium berlapis silika gel Merck 60 GF₂₅₄, 0,25 mm, 20 x 20 cm dan pereaksi CeSO₄, metanol p.a, Dimetilsulfoksida (DMSO), 2,2-Diphenyl-1-Picrylhidrazyl (DPPH), asam askorbat. Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini berupa alat gelas dan perangkat instrumentasi yang biasa digunakan di Laboratorium Kimia Organik Bahan Alam, kromatografi vakum cair, kromatografi flash, spektrofotometer UV-Vis Shimadzu, FTIR Shimadzu 8400, alat alat titik leleh Fisher John dan Spektrometer NMR JEOL JNM ECA-500 yang bekerja pada 500 MHz (¹H) dan 125 MHz (¹³C), mikropipet, *Microplate 96-well*, *Microplate Reader*.

Ekstraksi dan Isolasi

Sampel kulit batang *B. hullettii* Prain (3 kg) dimaserasi berturut-turut dengan *n*-heksan, diklorometan dan etilasetat, masing-masing tiga kali pengulangan dan

menghasilkan ekstrak n-heksan, diklorometan dan etilasetat. Fraksi etilasetat (27,39 g) difraksinasi dengan kromatografi vakum cair (KVC) (Si gel, 70 g) dan dielus dengan n-heksan, n-heksana-etilasetat (20%-80%), etilasetat dan etilasetat-metanol (20%) menghasilkan 7 fraksi utama A-G. Fraksi E (2,83 g) dipisahkan lebih lanjut dengan kromatografi kolom grafitasi (KKG) menggunakan eluen n-heksana dan etilasetat yang ditingkatkan kepolarannya dan diperoleh empat fraksi ($E_1 - E_4$). Fraksi E_3 (215 mg) dipisahkan dengan KKG menggunakan eluen n-heksana-diklorometan dan diklorometan-etilasetat yang ditingkatkan kepolarannya menghasilkan 4 fraksi ($E_{3.1} - E_{3.4}$). Fraksi $E_{3.3}$ (146,7 mg) dilanjutkan dengan kromatografi flash menggunakan eluen diklorometan-etilasetat yang ditingkatkan kepolarannya dan didapat tiga fraksi ($E_{3.3.1} - E_{3.3.3}$). Fraksi $E_{3.3.2}$ (125 mg) dikromatografi flash dan di kromatografi preparatif sehingga didapat senyawa 1 (10,9 mg). Dengan cara yang sama senyawa 2 (8 mg) diisolasi dari fraksi C.

Senyawa 3 diisolasi dari daun *B.hullettii* Prain (1,4 kg). Maserasi sampel menggunakan pelarut n-heksana, diklorometana, dan etilasetat, masing-masing tiga kali pengulangan dan diperoleh fraksi n-heksana, fraksi diklorometana dan fraksi etilasetat. Fraksi etilasetat (21,32) difraksinasi dengan KVC (Si gel, 70 g) dan dielus dengan n-heksana dan etilasetat (20%-90%), etilasetat dan etilasetat-metanol 20% menghasilkan 16 fraksi utama A-P. Fraksi I (1,83 g) dipisahkan lebih lanjut dengan KKG menggunakan eluen n-heksana, etilasetat dan aseton yang ditingkatkan kepolarannya dan menghasilkan 14 fraksi ($I_1 - I_{14}$). Fraksi I_9 (187 mg) dipisahkan lebih lanjut dengan penambahan diklorometan dan didapat kristal yang tidak larut dalam diklorometan (berwarna putih kehijauan). Selanjutnya kristal direkristalisasi menggunakan pelarut etilasetat dan heksan dan didapat senyawa 3 (20 mg).

Penentuan aktivitas antioksidan

Uji aktivitas antioksidan dilakukan menggunakan *microplate reader 96 well* (Berthold LB-941) *two fold delution* dengan metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)[27] dengan menggunakan filter panjang gelombang 520 nm. Sampel sebanyak 2 mg dilarutkan dalam 2 mL MeOH sehingga konsentrasi sampel menjadi 1000 $\mu\text{g/mL}$. Dengan pengenceran dibuat sampel dengan konsentrasi 1000, 500, 250, 125, 62.5 dan 31.25 $\mu\text{g/mL}$. Selanjutnya ditambahkan DPPH sebanyak 80 μL dengan konsentrasi 40 $\mu\text{g/mL}$, kemudian diinkubasi selama 30 menit. Kontrol positif yang digunakan sebagai pembanding yaitu vitamin C. Nilai % inhibisi dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ Hambatan} = \frac{(A_{\text{kontrol}} - A_{\text{sampel}})}{A_{\text{kontrol}}} \times 100$$

Keterangan : A_{kontrol} = Absorbansi tidak mengandung sampel

A_{sampel} = Absorbansi sampel

HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari fraksi etilasetat kulitbatang dan daun tumbuhan *Bauhinia hullettii* Prain telah diisolasi tiga senyawa. Senyawa 1 berupa kristal kuning diidentifikasi sebagai 5,7,3',5'-tetrahidroksi flavanon, senyawa 2 berupa kristal kuning diidentifikasi sebagai senyawa 5,7,4'-trihidroksi-6-metilflavanon dan senyawa 3 berupa kristal putih diidentifikasi sebagai asam 3,4,5-trihidroksibenzoat. Senyawa metilflavanon (2) merupakan senyawa flavonoid yang tidak umum dijumpai pada tumbuhan. Ketiga senyawa tersebut untuk pertama kalinya dilaporkan dari tumbuhan ini.

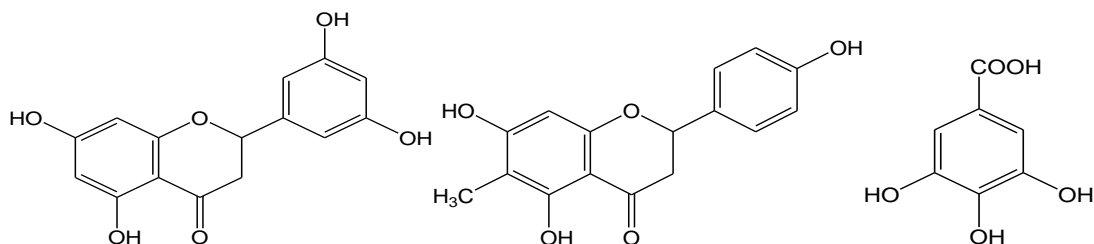
Ketiga senyawa ini telah diuji aktivitas antioksidannya dengan metode DPPH yang berdasarkan pada kemampuan suatu senyawa dalam meredam radikal bebas DPPH. Dari tiga senyawa yang ditemukan, dua diantaranya 5,7,3',5'-tetrahidroksi flavanon (1) dan asam 3,4,5-trihidroksibenzoat (2) menunjukkan aktivitas antioksidan seperti ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Nilai IC₅₀ senyawa hasil isolasi (1-3) dan standar antioksidan (asam askorbat) dengan metode DPPH.

No.	Sampel	Bagian Tumbuhan	IC ₅₀ (ug/mL)
1.	5,7,3',5'-tetrahidroksiflavanon	Kulit batang	6,33
2.	5,7,4'-trihidroksi-6-metilflavanon	Kulit batang	>100
3.	Asam 3,4,5-trihidroksibenzoat	Daun	1,26
4.	Vitamin C		6.94

Suatu senyawa dikategorikan sangat kuat antioksidan bila memiliki IC₅₀ ≤ 50 (μg/mL), kuat bila memiliki IC₅₀ 50-100 (μg/mL), sedang 250-500 (μg/mL), dan tidak aktif bila memiliki IC₅₀ >500 (μg/mL) (Molyneux, 2004). Berdasarkan data Tabel 1 disimpulkan 5,7,3',5'-tetrahidroksi flavanon (1) dan Asam 3,4,5-trihidroksibenzoat (3) dikategorikan sangat aktif antioksidan dengan IC₅₀ berturut-turut 6,33 dan 1,26 μg/mL. Sementara itu senyawa 5,7,4'-trihidroksi-6-metilflavanon tidak aktif antioksidan dengan IC₅₀ > 1000 μg/mL.

Ditinjau dari struktur molekulnya, senyawa 1 kaya dengan gugus hidroksil yang sangat berperan terhadap aktifitas antioksidan. Ikatan rangkap pada gugus karbonil pada rangka dasar yang mengandung cincin heterosiklik seperti pada senyawa 1 akan meningkatkan aktivitas antioksidan [28]. Senyawa 3 memiliki aktifitas antioksidan yang tinggi disebabkan oleh adanya gugus hidroksil fenolat dan unit katekol (1,2-dihidroksi) (Heim *et al.*, 2002). Walaupun terdapat gugus hidroksil fenolat, senyawa 2 tidak aktif antioksidan, hal ini diduga adanya substituen gugus metil pada posisi C-6.



(1)

(2)

(3)

KESIMPULAN

Berdasarkan senyawa yang berhasil diisolasi dapat disimpulkan bahwa akar tapak kuda mengandung senyawa yang sangat aktif sebagai antioksidan yaitu 5,7,3',5'-tetrahidroksiflavanon dan 3,4,5-trihidroksibenzoat sehingga berpotensi sebagai sumber senyawa antioksidan. Walaupun senyawa 5,7,4'-trihidroksi-6-metilflavanon tidak aktif sebagai antioksidan tetapi senyawa ini sangat jarang ditemukan pada tanaman lain, hal ini memberikan peluang ditemukannya senyawa flavonoid jenis baru pada tumbuhan ini.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih disampaikan kepada DP2M DIKTI yang telah menyediakan dana penelitian melalui dana Hibah Bersaing, Herbarium Universitas Andalas (ANDA), Program Studi Kimia ITB dan LIPI Serpong yang telah membantu pengukuran spektrum senyawa hasil isolasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Aderogba, M.A., A.O. Ogundaini dan J.N. Eloff. 2006. Isolation of Two Flavonoids From *Bauhinia monandra* (Kruz) Leaves and their Antioxidative Effects. *Afr.J.Tradisional CAM*.59-65.
- Aliyu, A.B., Ibrahim, M.A., Musa, A.M., Ibrahim, H., Abdulkadir, I.E. and Oyewale, A.O. 2009. Evaluation of Antioxidant Activity of Leave Extract of *Bauhinia rufescens* Lam. (Caesalpinaceae). *J. Med. Plant. Res.* 3(8):563-567.
- Bhaskar, B. And Avadhani, R. 2012. In Vitro Free Radical Scavenging Activity of *Bauhinia Racemosa*. *Nitte University Journal of Health Science.* 2(4):2-5.
- Borikar, V.I., Jangde, C.R., Philip P. and Rekhe, D.S. 2009a. Study of Antiulcer Activity of *Bauhinia racemosa lam* in Rats. *Veterinary World.* 2(6):215-216.
- Borikar, V.I., Jangde, C.R., Rekhe, D.S and Philip P. 2009b. Study of Analgesic Activity of *Bauhinia racemosa lam* in Rats. *Veterinary World.* 2(4):135-136.
- Dahikar, S.B., Bhutada, S.A., Tambekar, D.H., Vibhute, S.K. and Kasture, S.B. *In Vitro* 2011. Antibacterial Efficacy of Solvent Extracts of Leaves of *Bauhinia racemosa* Lam. (Caesalpinaceae) Against Enteric Bacterial Pathogens. *IJPSDR*.3(1):32-34.
- Gunalan, G., Saraswathy, A. and Krishnamurthy Vijayalakshmi. 2011. Antimicrobial Activity of Medicinal plant *bauhinia variegata* Linn. *Int J Pharm Bio Sci.* 1(4):400-408.
- Gupta, M., Mazumder, U. K., Kumar, R.S and Kumar, T.S. 2004. Antitumor Activity and Antioxident Role of *Bauhinia racemosa* Against Ehrlich Ascites Carcinoma in Swiss Albino Mice. *Acta Pharmacol Sin.* 25(8):1070-1076.

- Hay, A.E., Aumond, M.C., Mallet, S., Dumonted, V., Litaudon, M., Rondeau, D., and Rchomne, P. 2004. Antioxidant Xanthones from *Garcinia vieillardii*. *Journal of Natural Products*. 67:707-709.
- Heim, K. E., Tagliaferro, A. R., and Bobilya, D. J. 2002. Flavonoid Antioxidant:Chemistry, Metabolism and Structure-Activity Relationships. *Journal of Nutritional Biochemistry*. 13: 572-584.
- Heyne, K. 1987. *Tumbuhan berguna Indonesia III*. Badan Penelitian dan Pengembangan Kehutanan Departemen Kehutanan. Jakarta.
- Jain, R., Saxena, U., Rathore K. And Jain, S.C. 2008. Bioactivities of Polyphenolics from the Roots of *Bauhinia racemosa*. *Arch Pharm Res*. 31(12):1525-1529.
- Jash, S.K., Roy, R. And Gorai, D. 2014. Bioactive Constituents from *Bauhinia variegata* Linn. *Int J Pharm Biomed Res*. 5(2):51-54.
- Kamarolzaman, MFF., Yahya, F., Mamat, SS., Jakius, KF., Mahmood, ND., Shahrir, MS., Mohtarrudin, N., Suhaili, Z and Zakaria, ZA. 2014. Gastroprotective Activity and Mechasmisms of Action of *Bauhinia purpurea* Linn (Leguminoseae) leaf Methanol Extract. *Trop J Pharm Res*. 13(11):1889-1898.
- Krishnaveni, M. 2014. Antioxidant Potential of *Bauhinia purpurea* (L) Leaf. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 6(7):558-560.
- Kulshrestha, P.K., Mishra, A.K., Pal, V.K., Pandev, S., Tripathi, D. And Yadav, P., The 2011. Antimicrobial Activity of *Bauhinia variegata* Linn. Flower Extract (Methanolic). *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. 4(1):46-47.
- Kumar, R.S., Sivakumar, T., Sunderam, R.S., Gupta, M., Mazumdar, U.K., Gomathi, P., Rajeshwar, Y., Saravanan, S., Kumar, M.S., Muruges, K. And Kumar, K.A. 2005. Antioxidant and Antimicrobial Activities of *bauhinia racemosa* L. Stem Bark. *Braz J Med Biol Res*. 38(7):1015-1024.
- Laksmi, B.V.S., Neelima, N., Kasthuri, N., Umarani, V., Sudhakar, M. 2011. Antihyperlipidemic activity of *Bauhinia purpurea* Extracts in hypercholesterolemic Albino rats. *Int J PharmTech Res*. 3(3):1265-1272.
- Menezes, F.S., Minto, A.B.M., Ruela, H.S., Kuster, M., Sheridan, H. Dan Frankish, N. 2007. Hypoglycemic Activity of Two Brazilian *Bauhinia* species: *Bauhinia forficata* L. And *Bauhinia monandra* Kurz. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*. 17(1):08-13.
- Monahar, P., V. Rajesham, M. Ramesh, S. Kumar, K. And J. Kumari, P. 2011. Pharmacognostical, Phytochemical and Antimicrobial Activity of *Bauhinia racemosa* leaves. *Journal of Pharmaceutical Biology*. 1(1):10-14.
- Muhammad, A dan Sirat, H.M. 2013. COX-2 Inhibitors from Stem Bark of *Bauhinia Rufescens* Lam (Fabaceae). *EXCLI Journal*. 12:824-830.
- Murugan, M. and V.R. Mohan. Evaluation of Phytochemical Analysis and Antibacterial 2011. Activity of *Bauhinia purpurea* L. And *Hiptage benghalensis* L.Kurz. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 01(09):157-160.
- Pettit, G.R., Numata, A., Iwamoto, C., Usami, Y., Yamada, T., Ohishi, H and Cragg, G.M. 2006. Antineoplastic Agents.551. Isolation and Structures of Bauhiniastatins 1-4 from *bauhinia purpurea*. *J. Nat. Pro*. 69(3):323-327.

- Santos, Alda E dos, Kuster, R.M., Yamamoto, K.A., Salles, T.S., Campos, R., Meneses, Marcelo DF de, Soares, M.R and Ferreira D. 2014. Quercetin and Quercetin 3-O-glycosides from *Bauhinia longifolia* (Bong.) Steud. Show Anti-mayora Virus Activity. *Parasites and Vectors*. 7:130.
- Tanjung, M. dan T.S. Tjahjandarie. 2014. Isolasi dan Uji Aktivitas Antioksidan Senyawa Flavonoid dari Batang *Bauhinia exelsa*. *Bionature*. 16(2):103-105.
- Urmi, Kaniz F., Mostafa, S., Begum, G., Ifa, T., Hamid, K., 2013. Comparative Antioxidant Activity of Different Parts of *Bauhinia purpurea* L. *Biology and Medicine*. 5:78-82.
- Yadav, S. And Bhadoria, B.K. 2005. Two Dimeric Flavonoids from *Bauhinia purpurea*. *Indian Journal of Chemistry*. 44B:2604-2607.
- Yuenyongsawad, S., Bunluepuech, K., Wattanapiromsakul, C., Tewtrakul, S. 2013. Anti-cancer Activity of Compounds from *Bauhinia strychnifolia* Stem. *Journal of Ethnopharmacology*. 150:765-769.
- Zhang, Q., Zhang J., Shen, J., Silva, D. A., Dannis, A., and Barrow, C.J.A. 2006. *Journal of Applied Phycology*. 18 : 445-450.