

Uji Aktivitas Beberapa Senyawa Oligoresveratrol Hasil Isolasi Dari Kulit Batang Tumbuhan Hopea Odorata Sebagai Pencegah Degradasi 2-Deoksiribosa (Sri Atun, dkk)

UJI AKTIVITAS BEBERAPA SENYAWA OLIGORESVERATROL HASIL ISOLASI DARI KULIT BATANG TUMBUHAN *HOPEA ODORATA* SEBAGAI PENCEGAH DEGRADASI 2-DEOKSIRIBOSA

Oleh:

**Sri Atun, Retno Arianingrum, Nurfina Aznam
Staf Pengajar FMIPA UNY**

Abstract

The objective of the study were measured inhibitory of 2-deoxyribose degradation activity of balanocarpol (1), ampelopsin H (2), hopheaphenol (3), and hemlesyanol C (4) which are resveratrol compounds from isolation of stem bark of Hopea odorata, and to study of different activity as 2-deoxyribose degradation activity from this compounds. Methods of this study to measured 2-deoxyribose degradation activity test with Fenton reaction method. Activity of 2-deoxyribose degradation activity calculated as percentage absorbansi decreased sample with bioactive compounds compared with a blank. As positif control used vitamin C and BHT (Butylated Hydroxy Toluena). The result of this study showed activity each compounds as 2-deoxyribose degradation activity of balanocarpol (1), ampelopsin H (2), hopheaphenol (3), and hemlesyanol C (4) with an IC_{50} 1802,3; 4840,0; 61,8 and 425,5 $\mu\text{g/ml}$ respectively. Hopeaphenol (3) showed more active than vitamin C (IC_{50} 83,9 $\mu\text{g/ml}$) and BHT (1328,1 $\mu\text{g/ml}$)

Keywords: Hopea odorata; Oligoresveratrol; 2-deoxyribose degradation assay

PENDAHULUAN

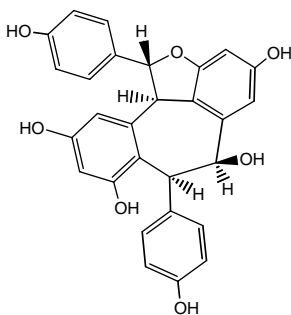
Salah satu kelompok tumbuhan yang banyak terdapat di Indonesia adalah famili Dipterocarpaceae. Tumbuhan ini terdiri dari 16 genus dan sekitar 600 spesies (Cronquist, 1981), 9 genus diantaranya terdapat di Indonesia, tersebar mulai dari Aceh sampai

Papua, dengan populasi terbesar terdapat di Kalimantan. *Hopea* merupakan salah satu genus Dipterocarpaceae yang banyak terdapat di Indonesia, sedikitnya terdiri dari 100 spesies (Heyne, 1987; Soerianegara, 1994).

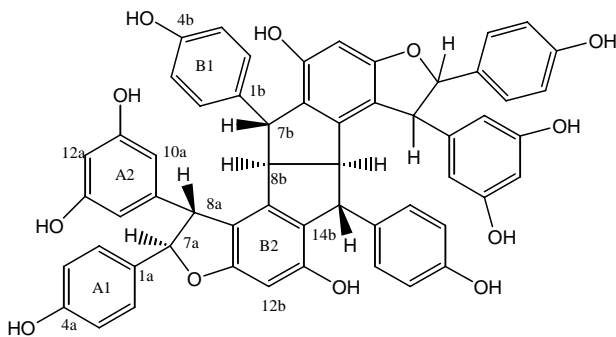
Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan terhadap beberapa spesies Dipterocarpaceae dapat diketahui bahwa senyawa kimia yang lazim ditemukan pada tumbuhan ini adalah terpenoid, fenilpropanoid, flavonoid, turunan benzofuran dan asam fenolat, serta oligomer resveratrol. Telah dilaporkan pula bahwa sejumlah senyawa oligomer resveratrol memiliki aktivitas biologi yang menarik seperti antitumor, antiinflamasi, antibakteri, sitotoksik, bersifat kemopreventif, hepatoprotektif, dan anti-HIV (Dai, 1998; Seo, 1999; Tanaka, 2000^{a,b,c}). Dengan melihat potensi kekayaan alam Indonesia, berupa tumbuhan famili Dipterocarpaceae dengan variasi jumlah spesies yang cukup banyak maka perlu dilakukan penelitian yang terus-menerus dan berkesinambungan untuk mengeksplorasi senyawa-senyawa kimia yang dikandungnya serta menguji aktivitas biologinya. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menguji aktivitas sebagai pencegah degradasi 2-deoksiribosa beberapa senyawa oligoresveratrol hasil isolasi dari kulit batang tumbuhan *Hopea odorata*. Hasil penelitian sebelumnya menunjukkan adanya empat senyawa yang telah diisolasi dari kulit

*Uji Aktivitas Beberapa Senyawa Oligoresveratrol Hasil Isolasi Dari Kulit Batang Tumbuhan *Hopea odorata* Sebagai Pencegah Degradasi 2-Deoksiribosa (Sri Atun, dkk)*

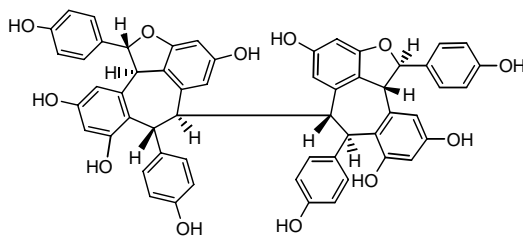
batang tumbuhan *Hopea odorata* yaitu balanokarpol (1); ampelopsin H (2); hopeafenol (3); dan hemlesyanol C (4).



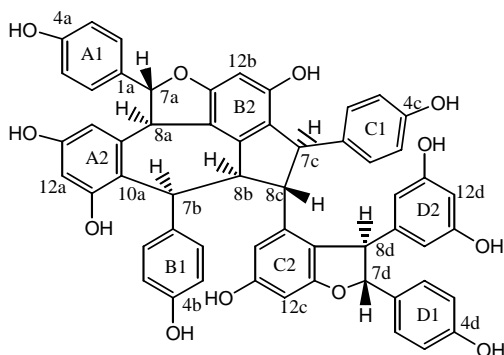
Balanokarpol (1)



Ampelopsin H (2)



Hopeafenol (3)



Hemlesyanol C (4)

METODE PENELITIAN

Alat dan bahan

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi Spectronic 20, inkubator, sentrifus, penangas air, dan seperangkat peralatan kaca. Bahan yang digunakan meliputi sampel hasil isolasi dari kulit batang tumbuhan *H. mengarawan* yaitu balanokarpol, heimiol A, vatikanol G, dan vatikanol B dengan kemurnian tinggi, larutan deoksiribosa 3 mM (Sigma Chem.Co), asam askorbat 0,1 mM (Sigma Chem.Co), hidrogen peroksida 0,1mM, larutan bufer fosfat pH 7.4, larutan besi (II) sulfat 0,1 mM, dan larutan asam tiobarbiturat.

Cara penelitian

Aktivitas sebagai pencegah degradasi 2-deoksiribosa dilakukan dengan metode Fenton (Halliwell *et al.* 1987). Dalam tabung

Uji Aktivitas Beberapa Senyawa Oligoresveratrol Hasil Isolasi Dari Kulit Batang Tumbuhan Hopea Odorata Sebagai Pencegah Degradasi 2-Deoksiribosa (Sri Atun, dkk)

reaksi dimasukkan 0,1 ml larutan deoksiribosa 3 mM; 0,01 ml larutan sampel pada berbagai konsentrasi; 0,1 ml asam askorbat 0,1 mM; 0,1 ml hidrogen peroksida 0,1mM, dan 0,59 ml larutan bufer fosfat pH 7,4 kemudian dihomogenkan. Reaksi dimulai dengan penambahan 0,1 ml larutan besi(II) sulfat 0,1 mM. Campuran tersebut diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37 °C. Hal yang sama juga dilakukan pada blanko yang mengandung reagen yang sama tetapi tidak mengandung senyawa yang dianalisis. Reaksi dihentikan dengan menambahkan 3 ml larutan asam tiobarbiturat, kemudian dipanaskan selama 15 menit pada suhu 80 °C. Warna merah dari larutan yang terbentuk diukur serapannya pada panjang gelombang maksimum 532 nm. Kemampuan menangkap radikal hidroksil dihitung sebagai persentase berkurangnya serapan larutan yang mengandung senyawa bioaktif yang menangkap radikal hidroksil dibandingkan dengan larutan blanko, dengan rumus perhitungan sebagai berikut:

A_{tp} = serapan tanpa sampel

A_p = serapan dengan sampel

Uji Aktivitas Beberapa Senyawa Oligoresveratrol Hasil Isolasi Dari Kulit Batang Tumbuhan Hopea Odorata Sebagai Pencegah Degradasi 2-Deoksiribosa (Sri Atun, dkk)

Pada penelitian ini telah dilakukan uji aktivitas sebagai penangkap radikal hidroksil dari masing-masing fraksi pada variasi konsentrasi 500; 250; 125; 62,5; dan 31,25 µg/ml dengan tiga kali pengukuran (triplo). Sebagai kontrol positif digunakan vitamin C (antioksidan alami) dan BHT (*Butylated Hydroxy Toluena*, sebagai antioksidan sintetik). Dari data prosentase aktivitas pada variasi konsentrasi selanjutnya digunakan untuk menentukan harga IC₅₀ (konsentrasi sampel yang memiliki aktivitas 50%) dari masing-masing sampel menggunakan persamaan regresi linier $Y = b + aX$, yang dihitung menggunakan kalkulator fx 3600P. Secara singkat hasil perhitungan ini disajikan pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil uji aktivitas sebagai pencegah degradasi 2-deoksiribosa dari beberapa fraksi *H. odorata* dan senyawa hasil isolasi

No	Jenis sampel dari fraksi	IC ₅₀ µg/ml	Keterangan
1	Fraksi aseton total	3611,1	Aktivitas rendah
2	Fraksi relatif non polar	1542,4	Aktivitas rendah
3	Fraksi relatif polar	352,9	Aktif
4	Balanokarpol (1)	1802,3	Aktivitas rendah
5	Ampelopsin H (2)	4840,0	Aktivitas rendah
6	Hopeafenol (3)	61,8	Sangat aktif
7	Hemlesyanol C (4)	425,5	Aktif
8	Vitamin C	83,9	Sangat aktif
9	BHT	1328,1	Aktivitas rendah

Keterangan:

Keterangan: $IC_{50} < 100 \mu\text{g/ml}$: sangat aktif; $100 - 1000 \mu\text{g/ml}$: aktif; dan $1000 - 5000 \mu\text{g/ml}$: aktivitas rendah; $> 5000 \mu\text{g/ml}$: tidak aktif (Kim *et al.* 2002)

Penyakit degeneratif umumnya terjadi akibat kerusakan sel, jaringan lemak, protein, sistem kekebalan, dan DNA yang disebabkan oleh berbagai faktor baik terjadi secara alami, terkena radiasi, atau oleh zat-zat kimia yang bersifat karsinogenik. Ada berbagai macam teori yang dapat menjelaskan penyebab penyakit degeneratif. Salah satu teori yang dianggap cukup signifikan adalah teori reaksi radikal bebas. Menurut teori ini penyebab penyakit degeneratif adalah akibat timbulnya radikal hidroksil dalam mekanisme biokimia yang terjadi di dalam tubuh (Aruoma, 1994).

Radikal bebas (*free radical*) adalah suatu atom atau molekul yang mempunyai satu elektron yang tidak berpasangan. Secara teoretis radikal bebas dapat terbentuk bila terjadi pemutusan ikatan kovalen. Radikal bebas dianggap berbahaya karena menjadi sangat reaktif dalam upaya mendapatkan pasangan elektronnya, dapat pula terbentuk radikal bebas baru dari atom atau molekul yang elektronnya terambil untuk berpasangan dengan radikal bebas sebelumnya. Oleh karena sifatnya yang sangat reaktif dan gerakannya yang tidak beraturan, maka apabila terjadi di dalam tubuh makhluk hidup akan menimbulkan kerusakan di berbagai bagian sel

Uji Aktivitas Beberapa Senyawa Oligoresveratrol Hasil Isolasi Dari Kulit Batang Tumbuhan Hopea Odorata Sebagai Pencegah Degradasi 2-Deoksiribosa (Sri Atun, dkk)

(Aruoma, 1994). Kerusakan tersebut dapat menyebabkan timbulnya berbagai macam penyakit degeneratif seperti katarak, kanker, aterosklerosis, dan proses penuaan (Muhilal 1991).

Perhitungan harga IC_{50} aktivitas pencegah 2-deoksiribosa ekstrak total aseton, fraksi non polar, hasil isolasi fraksi non polar, yaitu balanokarpol (1) dan ampelopsin H (2) menunjukkan aktivitas rendah, dengan harga IC_{50} berturut-turut 3611,1; 1542,4; 1802,3; dan 4840,0 $\mu\text{g/ml}$, sedangkan fraksi relatif polar menunjukkan aktivitas yang lebih tinggi IC_{50} 352,9 $\mu\text{g/ml}$ meskipun aktivitasnya lebih rendah dibanding vitamin C (IC_{50} 83,9 $\mu\text{g/ml}$). Balanokarpol (1) dan ampelopsin H (2) yang diperoleh dari fraksi relatif non polar menunjukkan aktivitas yang rendah sebagai pencegah degradasi 2-deoksiribosa, dibandingkan dengan vitamin C, sedangkan hopeafenol (3) dan hemlesyanol C (4) menunjukkan harga IC_{50} 61,8 dan 425,5 $\mu\text{g/ml}$ yang menunjukkan aktivitas sangat aktif dan aktif.

Dari hasil penelitian ini dapat diketahui aktivitas beberapa senyawa oligoresveratrol hasil isolasi dari kulit batang *H. odorata* sebagai pencegah degradasi 2-deoksiribosa. Keempat jenis resveratrol tersebut menunjukkan bahwa aktivitas sebagai penangkap radikal disamping ditentukan oleh adanya gugus fenol bebas juga dipengaruhi oleh bentuk struktur molekul dari senyawa tersebut. Secara teoretis makin banyak jumlah gugus fenolnya makin tinggi

kemampuannya sebagai penangkap radikal hidroksil. Gugus fenol dapat menangkap hidroksil dengan cara melepaskan radikal hidrogen yang akan berkondensasi dengan radikal hidroksil, membentuk molekul air, sedangkan radikal fenol akan terstabilkan oleh resonansi (Hart H., 1987). Dengan demikian, senyawa resveratrol tersebut berpotensi untuk dikembangkan sebagai antioksidan, yang dapat mencegah atau memperlambat terjadinya reaksi oksidasi radikal bebas. Peran antioksidan dalam tubuh adalah mengurangi radikal bebas, seperti species oksigen reaktif yang dapat terbentuk dalam proses metabolisme di dalam organisme. Antioksidan juga dapat berfungsi melindungi lipoprotein densitas rendah (*low density lipoprotein*) dari reaksi oksidasi sehingga dapat mencegah terjadinya arteriosklerosis. Penelitian ini perlu dikembangkan lebih lanjut sehingga dapat dihasilkan antioksidan alami yang aman, yang dapat mengurangi berbagai penyakit degeneratif di Indonesia. Di samping itu, tumbuhan meranti (Dipterocarpaceae) merupakan salah satu kekayaan hutan tropis yang belum dimanfaatkan secara optimum. Sementara ini tumbuhan meranti baru dimanfaatkan sebagai bahan bangunan dan bahan baku industri kayu lapis, sedangkan kulit batangnya merupakan limbah yang belum dapat dimanfaatkan

Uji Aktivitas Beberapa Senyawa Oligoresveratrol Hasil Isolasi Dari Kulit Batang Tumbuhan Hopea Odorata Sebagai Pencegah Degradasi 2-Deoksiribosa (Sri Atun, dkk)

SIMPULAN

Dari penelitian ini dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

Uji aktivitas sebagai pencegah degradasi 2-deoksiribosa dari balanokarpol (1), ampelopsin H (2), hopeafenol (3), dan hemlesyanol C (4) menunjukkan harga IC₅₀ berturut-turut adalah 1802,3; 4840,0; 61,8 dan 425,5 µg/ml.

Berdasarkan harga IC₅₀ tersebut menunjukkan bahwa hopeafenol menunjukkan aktivitas pencegah degradasi 2-deoksiribosa paling tinggi dibanding senyawa resveratrol lainnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Aruoma O.I. 1994. Free radicals and antioxidant strategies in sports. *J Nutr Biochem* 5: 370-381.
- Dai, J.R., Hallock Y.F., Cardellina J.H., Boyd M.R. 1998. HIV-Inhibitory and cytotoxic oligostilbenoids isolated from the leaves of *Hopea malibato*. *J Nad Prod* 61: 351-353.
- Cronquist A, (1981), *An Integrated System of Classification of Flowering Plants*, New York: Columbia In Press.
- Halliwel B., Gutteridge J.M.C., Aruoma O.I. 1987. The deoxyribose method: a simple test tub assay for determination of rate constans for reaction of hydroxyl radicals. *Anal Biochem.* 165: 215-219.
- Hart H. 1983. *Kimia Organik* (Terjemahan Suminar A.). Jakarta: Erlangga

- Heyne K. 1987. *Tumbuhan berguna Indonesia* jilid III. Jakarta: Badan Litbang Kehutanan.
- Kim H. J, Eun J.C, sung H. C., shin K. C., Heu D. P., Sang W. C. 2002. Antioxidative activity of resveratrol and its derivatives isolated from seed of *Paeonia lactiflora*. *Biosci Biotechnol Biochem* 66: 1990-1993.
- Muhilal. 1991. Teori radikal bebas dalam gizi dan kedokteran *Cermin Dunia Kedokteran* . 73: 9-11.
- Seo E.K., Chai H., Constant H.L., Santisuk V.R., Vichai R., Christopher W.W., Farnsworth N.R , Cordell G.A., Pezzuto J.M., Kinghorn A.D. 1999. Resveratrol tetramer from *Vatica diospyroides*. *J Org Chem* 64: 6976-6983.
- Soerianegara I., Lemmens R.H.M.J. 1994. *Plant resources of South East Asia, 5 (1), timber trees: major commercial timbers*. Prosea: Bogor, Indonesia.
- Tanaka T., Ito T., Ido Y., Son T.K., Nakaya K., Linuma M. , Ohyama M., Chelladurai V., 2000^a . Stilbenoids in the stem bark of *Hopea parviflora*. *Phytochemistry* 53: 1015 –1019.
- Tanaka T., Ito T., Nakaya K., Linuma M., Riswan S. 2000^b . Oligostilbenoids in the stem bark of *Vatica rassak*. *Phytochemistry*. 54: 63-69.
- Tanaka T., Ito T., Nakaya K., Inuma M., Takashi Y., Naganawa H., Matsura N., Ubukata M. 2000^c. Vatikanol D, a novel resveratrol hexamer isolated from *Vatica rassak*, *Tetrahedron Letters*. 41: 7929 – 7932.