

## Aktivitas Antioksidan Senyawa Asam 5(E)-Eikosenoat dari Batang Tanaman *Polygonum pulchrum* Bl

Muh. Hajrul Malaka, Agung Wibawa Mahatva Yodha, Azhar, Rini Hamsidi, Sahidin \*

Fakultas Farmasi Universitas Halu Oleo, Kampus Hijau Bumi Tridharma Anduonohu Kendari 93232

### Abstract

Isolation and identification of secondary metabolite stem bark of *Polygonum pulchrum* and its antioxidant activity were done. Extraction was performed by maceration using methanol solvent. The separation and purification obtained by using vacuum liquid chromatography (VLC), radial chromatography (RC) and monitored by thin layer chromatography (TLC). Identification of isolated compounds determined by spectroscopy method i.e. FT-IR, 1D-NMR ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -NMR and DEPT) and 2-D NMR (HMQC and HMBC). White solid compound was isolated and characterized as 5(E)-eicosenoic acid. Antioxidant was analyzed towards DPPH (1,1-diphenyl-picrylhydrazil). The compound showed that has antioxidant potency with  $\text{IC}_{50}$  value at 348.10  $\mu\text{M}$ .

**Keywords:** *Polygonum pulchrum*, 5(E)-eicosenoic acid, antimicrobial, antioxidant

### 1. Pendahuluan

Provinsi Sulawesi Tenggara memiliki kekayaan hayati yang sangat banyak, khususnya tanaman yang memiliki khasiat obat. Dalam kajian eksplorasi aspek kimia dan farmakologi dari tanaman obat tradisional, beberapa famili dan genus tanaman obat telah diteliti antara lain Dipterocarpaceae [1, 2, 3], *Jatropha* [4, 5, 6], *Imperata* [7], dan *Dillenia* [8]. Saat ini, genus *Polygonum* telah dijadikan sebagai salah satu topik riset yang berpotensi dalam pengembangan tanaman obat [9].

Berdasarkan kajian bioaktivitas dari genus *Polygonum* dengan berbagai spesies telah banyak dilaporkan, antara lain *P. multiflorum* untuk pengobatan penyakit kardiovaskuler, termasuk aterosklerosis dan hipertensi, kemungkinan besar karena memiliki aktivitas sebagai antioksidan [10]. *P. capitatum* memiliki aktivitas antibakteri dan antioksidan [11]. *P. perfoliatum* L. memiliki berbagai efek farmakologis termasuk antiinflamasi, antibakteri, dan efek antitumor [12]. *P. hydropiper* L. sebagai antioksidan dan antitumor [13].

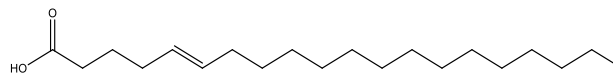
*P. pulchrum* merupakan salah satu spesies yang berasal dari genus *Polygonum* dimana dari beberapa kajian bioaktivitas yang telah dilakukan menunjukkan aktivitasnya sebagai antioksidan dan antimikroba, namun senyawa metabolit sekunder dari spesies *P. pulchrum* sejauh ini belum banyak dilaporkan [9, 14]. Oleh karena itu, perlu dilakukannya isolasi dan identifikasi struktur senyawa

kimia serta uji aktivitas terhadap radikal bebas 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil (DPPH).

### 2. Bahan dan Metode

#### 2.1 Prosedur Umum

Isolasi dilakukan dengan teknik kromatografi vakum cair (KCV), kromatografi radial (KR) menggunakan fase diam Si-gel 60 GF (Merck), serta analisis dengan kromatografi lapis tipis (KLT) dengan fase diam silika gel (Merck Kieselgel 60F<sub>254</sub>, 0.25 mm). Pengukuran spektra 1D-NMR ( $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$ -NMR) dan 2D-NMR (HMBC, HMQC, COSY) menggunakan spektrometer JEOL ECP 500 pada frekuensi 500 MHz ( $^1\text{H}$ ) dan 125 MHz ( $^{13}\text{C}$ ) di Pusat Penelitian Kimia LIPI, Serpong, Indonesia.



Gambar 1. Struktur asam 5(E)-eikosenoat

#### 2.2 Sampel Tanaman

\*KBK Farmasi Sains, Fakultas Farmasi UHO  
Email: [sahidin02@yahoo.com](mailto:sahidin02@yahoo.com)

Tanaman *P. pulchrum* Bl. diperoleh dari Pusat Koleksi dan Pengembangan Tanaman Obat Tradisional Masyarakat Sulawesi Tenggara Arboretum Prof. Mahmud Hamundu Universitas Halu Oleo. Identifikasi tanamannya dilakukan di Herbarium Bogoriense, Bogor, Indonesia.

### 2.3 Isolasi

Sebanyak 2 kg batang tanaman *P. pulchrum* Bl dimaserasi dengan metanol selama 3x24 jam di dalam wadah yang tertutup dengan penggantian pelarut. Setelah dipekatkan dengan *rotary vacuum evaporator* (Buchi, Switzerland), diperoleh ekstrak kental berwarna merah kecokelatan (75 g). Ekstrak dipisahkan dengan kromatografi cair vakum KCV (25 g, diameter kolom  $\Phi$  10 cm, fase diam Si-gel 150 g) dengan fase gerak yang ditingkatkan kepolarannya (*n*-heksan, *n*-heksan:etilasetat, metanol), menghasilkan 18 fraksi yang selanjutnya dikelompokkan ke dalam 5 fraksi gabungan berdasarkan profil KLT. Fraksi F2 (12 g) dipisahkan lebih lanjut dengan KCV (diameter kolom  $\Phi$  5 cm, fase diam Si-gel 80 g, dan fase gerak etilasetat:*n*-heksan (10-100%, MeOH 100%)) menghasilkan 4 fraksi gabungan. Pemurnian fraksi F21 menggunakan kromatografi radial (KR), fase diam Si-gel PF<sub>254</sub>, fase gerak etilasetat:*n*-heksan (30:70%) menghasilkan padatan putih sebanyak 25 mg.

### 2.4 Identifikasi Isolat

Isolat diperoleh sebagai padatan putih. Spektrum IR (KBr)  $\tilde{\nu}_{\text{maks}}$  (cm<sup>-1</sup>) 3431 (OH); 3018 (C $sp^2$ -H); 2924 (C $sp^3$ -H); 1709 (C=O); 1327 (C-C); 1052 (C-O). Spektrum (<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz) 5,34 (2H, *m*); 2,34 (2H, *t*, *J*=7,7 Hz); 2,16 (1H, *t*, *J*=6,5 Hz); 2,02 (2H, *m*); 1,63 (2H, *m*); 1,31 (2H, *m*); 1,28 (22H, *m*); 0,87 (3H, *m*). Spektrum <sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 125 Hz) 179,52; 130,21; 129,92; 34,12; 31,72; 29,95; 29,88; 29,78; 29,71; 29,62; 29,55; 29,50; 29,43; 29,32; 29,25; 29,22; 27,41; 24,81; 22,76; 14,25.

### 2.5 Uji Aktivitas Antioksidan

Secara kuantitatif, 1 mL DPPH ditambah etanol hingga menjadi 10 mL (blanko). Isolat dibuat dengan 4 seri konsentrasi yaitu 5, 10, 15 dan 20 ppm. Tiap sampel ditakar dengan volume yang sama kemudian ditambahkan berisi 1 ml DPPH 0,1% diencerkan dengan hingga etanol volumenya menjadi 10 mL kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit. Serapan diukur pada panjang gelombang 517 nm. Persamaan garis yang diperoleh digunakan untuk menghitung IC<sub>50</sub> [14].

## 3. Hasil dan Pembahasan

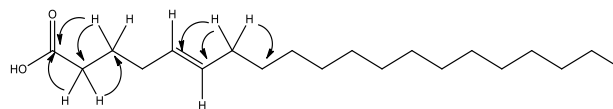
Isolasi senyawa dilakukan dengan metode pemisahan meliputi ekstraksi dan kromatografi. Elusidasi struktur ditentukan dengan membandingkan data spektrum (<sup>1</sup>H dan <sup>13</sup>C-NMR) dengan data spektroskopi dari pustaka.

Spektrum IR memperlihatkan serapan gugus hidroksil (OH) pada bilangan gelombang 3431 cm<sup>-1</sup> dan uluran ikatan C $sp^2$ -H pada bilangan gelombang 3018 cm<sup>-1</sup>. Karakteristik ikatan C $sp^3$ -H ditunjukkan dengan adanya serapan pada bilangan gelombang 2924 cm<sup>-1</sup> yang diperkuat oleh serapan tekukan C-C pada 1327 cm<sup>-1</sup>. Selain itu, gugus karbonil C=O juga terlihat pada 1709 cm<sup>-1</sup> dan gugus C-O pada 1052 cm<sup>-1</sup>.

Sinyal <sup>13</sup>C-NMR yang memperlihatkan geseran kimia utama pada 130,21 dan 129,92 ppm yang mengindikasikan sepasang orbital hibrid  $sp^2$ , serta karbon karbonil pada 179,5 ppm. Selain itu, terdapat sinyal karbon yang saling tumpang tindih yang menunjukkan kerapatan elektron identik. Analisis lebih lanjut menggunakan teknik DEPT (*Distortionless Enhancement by Polarization Transfer*) digunakan untuk membedakan jenis atom karbon, yaitu metil (CH<sub>3</sub>), metilen (CH<sub>2</sub>), metin (CH) dan karbon kuartener (Cq), dimana isolat memiliki 1 metil, 16 metilen, 2 metin, dan 1 karbon kuartener.

Data spektrum <sup>1</sup>H-NMR menunjukkan 8 jenis proton alifatik yang mewakili 38 proton. Salah satu sinyal proton pada geseran kimia  $\delta_H$  5,34 ppm memiliki kerapatan elektron yang lebih rendah (*deshielding*) dibandingkan proton lainnya, karena terikat pada atom karbon yang memiliki ikatan rangkap dua (C5-C). Sinyal lainnya memiliki geseran kimia yang relatif kecil karena terikat pada karbon C $sp^3$  yang memiliki kerapatan elektron cukup tinggi. Hasil interpretasi data IR dan NMR memberikan informasi rumus molekul senyawa isolat adalah C<sub>20</sub>H<sub>38</sub>O<sub>2</sub> dengan DBE (*Double Bond Equivalence*) = 2 yang berasal dari 1 ikatan rangkap dan 1 karbon karbonil.

Konfirmasi struktur isolat dilakukan dengan analisis 2D-NMR menggunakan teknik HMBC (*Hetero Multiple Bond Correlation*) menyatakan korelasi jarak jauh antara proton dan karbon tetangga. Karbon karbonil pada  $\delta_C$  179,9 ppm memiliki korelasi jarak jauh dengan proton pada  $\delta_H$  1,63 ppm (H-2) dan 2,34 ppm (H-3), Korelasi jarak jauh juga diperlihatkan oleh H-7 terhadap C-5, C-6, dan C-8.



Gambar 2. Struktur HMBC asam 5(E)-eikosenoat

**Tabel 1.** Perbandingan data <sup>1</sup>H dan <sup>13</sup>C-NMR senyawa isolat dan pustaka

No. C	δc <sup>1</sup> (ppm)	δH (ΣH, mult., J dalam Hz)	δc <sup>2</sup> (ppm)	δH <sup>2</sup> (ΣH, mult., J dalam Hz)
1	179,52	-	179,6	-
2	34,12	2,34 (2H, t, J=7,7 Hz)	34,03	2,3 (2H)
3	24,81	1,63 (2H, m)	24,72	1,71 (2H)
4	31,72	2,16 (2H, t, J=6,5 Hz)	31,91	2,03 (2H)
5	130,21	5,34 (1H, m)	130,92	5,3 (1H)
6	129,92	5,34 (1H, m)	129,71	5,3 (1H)
7	27,41	2,02 (2H, m)	27,14	2,06 (2H)
8	29,95	1,28 (2H, m)	29,06-29,65	1,2-1,3 (2H)
9	29,88	1,28 (2H, m)	29,06-29,65	1,2-1,3 (2H)
10	29,78	1,28 (2H, m)	29,06-29,65	1,2-1,3 (2H)
11	29,71	1,28 (2H, m)	29,06-29,65	1,2-1,3 (2H)
12	29,62	1,28 (2H, m)	29,06-29,65	1,2-1,3 (2H)
13	29,55	1,28 (2H, m)	29,06-29,65	1,2-1,3 (2H)
14	29,50	1,28 (2H, m)	29,06-29,65	1,2-1,3 (2H)
15	29,43	1,28 (2H, m)	29,06-29,65	1,2-1,3 (2H)
16	29,32	1,28 (2H, m)	29,06-29,65	1,2-1,3 (2H)
17	29,25	1,28 (2H, m)	29,06-29,65	1,2-1,3 (2H)
18	29,22	1,28 (2H, m)	29,06-29,65	1,2-1,3 (2H)
19	22,76	1,31 (2H, m)	22,67	1,2-1,3 (2H)
20	14,25	0,87 (3H, m)	14,05	0,85 (3H)

1) Isolat

2) Pustaka [15]

Berdasarkan data 1D dan 2D-NMR, senyawa isolat adalah asam 5-E-eikosenoat. Hal ini didukung oleh kemiripan parameter pada sinyal 1H dan 13C-NMR antara senyawa isolat dan asam 5-E-eikosenoat (Tabel 1).

Potensi penangkal radikal bebas senyawa isolat terhadap radikal DPPH mengindikasikan senyawa isolat memiliki kemampuan untuk mendonorkan elektron kepada DPPH. Hasil uji kuantitatif aktivitas antioksidan menunjukkan bahwa isolat mempunyai nilai IC<sub>50</sub> sebesar 348,10 μM. Aktivitas antioksidan isolat diperkirakan berasal dari delokalisasi elektron pada gugus karboksilat. Aktivitas antioksidan 5-E-eikosenoat lebih rendah dibandingkan dengan kontrol positif vitamin E yang memiliki nilai IC<sub>50</sub> sebesar 18,79 μM.

#### 4. Kesimpulan

Hasil isolasi dan identifikasi senyawa dari batang tanaman *P. pulchrum* B1 yaitu asam 5-E-eikosenoat memiliki aktivitas antioksidan lemah dengan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 348,10 μM.

#### Ucapan Terima Kasih

Ucapan terima kasih kepada Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan Republik Indonesia sebagai penyedia dana penelitian melalui Hibah Kompetensi 2014.

#### Daftar Pustaka

- Sahidin, Hakim EH, Juliawaty LD, Syah YM, Din LB, Ghisalberty EL, Latip J, Said IM, and Achmad SA. Cytotoxic Properties of Oligostilbenoids from the Tree Barks of *Hopea dryobalanoides*. *Z. Naturforsch. C.*, 2005, **60c**; 718-723.
- Muhammad N, Din LB, Sahidin I, Hashim SF, Ibrahim N, Zakaria Z and Yaacob WA, Acuminatol and Other Antioxidative Resveratrol Oligomers from the Stem Bark of *Shorea acuminata*. *Molecules*, 2012, **17**; 9043-9055.
- Juliawati LD, Sahidin, Hakim EH, Achmad SA, Syah YM, Latip J and Said IM. A 2-arylbenzofuran derivative from *Hopea mengarawan*, *Nat. Prod. Comm.*, 2009, **4(7)**; 947-950.
- Sahidin, Nakazibwe S, Taher M, Saxena AK, Ichwan SJA and Ardiansyah. Antiproliferation of curcusone B from *Jatropha curcas* on human cancer cell lines. *Aust. J. Basic & Appl. Sci.*, 2011, **5(8)**; 47-51.
- Sahidin, Yamin, Ginting S, Manggau MA, Lukman. Cytotoxic potency of diterpenes from *Jatropha* plants. *Int J Pharm Pharm Sci*, 2013, **5(3)**; 417-420.
- Sabandar CW, Ahmat N, Jaafar FM and Sahidin I. Medicinal property, phytochemistry and pharmacology of several *Jatropha* species (Euphorbiaceae): A review. *Phytochemistry*, 2013, **85**; 7-29.
- Ruslin, Zaini MA, Rianse U, Sahidin I, Dianawaty D, Sumaji AA and Amalia L: Anti-hypertensive activity of Alang-alang (*Imperata cylindrica* L.) roots methanolic extract on male wistar rat. *Int J Res Pharm Sci*, 2013, **4(4)**; 537-542

8. Jalil J, Sabandar CW, Ahmat N, Jamal JA, Jantan I, Aladdin NA, Muhammad K, Buang F, Mohamad HF and Sahidin I: Inhibitory Effect of Triterpenoids from *Dillenia serrata* (Dilleniaceae) on Prostaglandin E2 Production and Quantitative HPLC Analysis of Its Koetjapic Acid and Betulinic Acid Contents. *Molecules*, 2015, **20**; 3206-3220.
9. Sahidin, Nohong, Sani A, Manggau MA, Sukohar A, Widodo H, Baharum SN. Radical scavenging activity of triterpene steroids from stem of *Polygonum pulchrum* Bl, *Int J Pharm Pharm Sci*, 2014, **6(8)**; 350-354.
10. Liu LP, Liao ZP, Yin D, Li WD, Liu D, Li Q, Huang QR, Yang YF, He M. The protective effects of *Polygonum multiflorum* stilbeneglycoside preconditioning in an ischemia/reperfusion model of HUVECs. *Acta Pharmacol.Sin.*, 2010, 31; 405-412
11. Li YM, Gong Y. The research progress on the chemical component and the pharmacology of *Polygonum capitatum* Ham ex D. Don'. *J. of Guizhou University (Nat. Sci.)*, 2007. **24**; 205-207.
12. Dongsheng F, Zhou X, Zhao C, Chen H, Zhao Y, Gong X. Anti-inflammatory, antiviral and quantitative study of quercetin-3-O- $\beta$ -D-glucuronide in *Polygonum perfoliatum* L., *Fitoterapia*, 2011, **82**; 805-810.
13. Munira S, Farzana S, Shabnam M. Anti-Neoplastic Activities of *Polygonum hydropiper* Linn. against Ehrlich *Ascites Carcinoma* in Swiss Albino Mice, *Adv. in Bio. Res.*, 2013, **7(1)**.
14. Sahidin I, Suwandi A, Nohong, Manggau MA. Profile of anticancer and radical scavenging activities of steroids from stems of *Polygonum pulchrum* Bl., *IJPSR*, 2015, **6(5)**; 2178-2184.
15. Viswanadh GS, Ramaipah PA, Laastch H, Maskey R. Chemical Constituents of The Heartwood and Bark of *Homonoia riparia*. *J.Top.Med.Plants*, 2006, **7(2)**.