



Aktivitas Antioksidan dan Penghambatan Xantin Oksidase Kulit Batang Songi (*Dillenia serrata* Thunb.)

(Antioxidant and Xanthine Oxidase Inhibitory Activity of Stem Bark of Songi (*Dillenia serrata* Thunb.))

Carla Wulandari Sabandar^{1*}, Juriyati Jalil², Norizan Ahmat³, Nor-Ashila Aladdin², Harni Sartika Kamaruddin¹, Retno Wahyuningrum¹

^{1*}Program Studi Farmasi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Sembilanbelas November Kolaka, Kolaka, Indonesia.

²Drug and Herbal Research Centre, Faculty of Pharmacy, Universiti Kebangsaan Malaysia, Kuala Lumpur, Malaysia.

³Faculty of Applied Sciences, Universiti Teknologi MARA, Shah Alam, Selangor, Malaysia.

E-mail: carla@usn.ac.id

Article Info:

Received: 4 Februari 2020

in revised form: 12 Februari 2020

Accepted: 14 Maret 2020

Available Online: 15 Maret 2020

Keywords:

Dilleniaceae

Dillenia serrata Thunb.

Fenolik

Flavonoid

Antioksidan

Xantin oksidase

Corresponding Author:

Carla Wulandari Sabandar

Program Studi Farmasi

Fakultas Sains dan Teknologi

Universitas Sembilanbelas

November Kolaka

Kolaka

93517

Indonesia

email: carla@usn.ac.id

ABSTRACT

Songi (*Dillenia serrata*) is a tree endemic to Southeast Sulawesi and its stem bark has been used in folk medicine. Nonetheless, only a handful of scientific knowledge regarding chemistry and biological activities has been investigated on the plant. The present study was aimed to investigate the antioxidant and xanthine oxidase (XO) inhibitory activity of the stem bark of the plant. Methanol extract and organic fractions (petroleum ether, ethyl acetate, and methanol) of the dried powdered stem bark of songi were evaluated for phytochemical screening, total phenolic (TPC), total flavonoid contents (TFC), DPPH, FRAP, and XO *in vitro* assays. Flavonoids, tannins, terpenoids, steroids, and saponins were present in the extract. Meanwhile, the TPC and TFC were estimated to be 59.2 mg GAE/g and 23.4 mg QE/g. The contents in organic fractions were in solvent-dependent manner in the order of methanol>ethyl acetate>petroleum ether. Extract and fractions scavenged the DPPH radical (48.2–59.7%) at 100 µg/mL as compared to ascorbic acid, trolox, and gallic acid (90.3–93.8%). The FRAP values were varied from 0.8–3.4 µg/µg of equivalent trolox amount (quercetin and gallic acid were 25.7 dan 32.4 µg/µg, respectively). They also inhibited the xanthine oxidase activity (15.3–50.3%) at 100 µg/mL (allopurinol, 98.2%). The study concluded the potential of methanol extract and organic fractions of the stem bark of songi and highlighted the prospect of songi to be used in herbal and drugs development from nature.



Copyright © 2019 JFG-UNTAD

This open access article is distributed under a Creative Commons Attribution (CC-BY-NC-SA) 4.0 International license.

Sabandar, C. W., Jalil, J., Ahmat, N., Aladdin, N-A, Kamaruddin, H. S., Wahyuningrum, R. (2020). Aktivitas Antioksidan dan Penghambatan Xantin Oksidase Kulit Batang Songi (*Dillenia serrata* Thunb.). *Jurnal Farmasi Galenika: Galenica Journal of Pharmacy*, 6(1), 151-159. 10.22487/j24428744.2020.v6.i1.15008

ABSTRAK

Songi (*Dillenia serrata*) adalah tanaman pohon endemik dari Sulawesi Tenggara yang digunakan sebagai bahan ramuan obat tradisional oleh masyarakat lokal. Namun demikian, pengetahuan saintifik tentang tanaman ini masih sangat kurang baik itu kandungan kimia maupun aktivitas biologi. Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji aktivitas kulit batang songi sebagai antioksidan dan penghambat enzim xantin oksidase. Untuk itu, skrining fitokimia, uji kandungan fenolik total (TPC) dan flavonoid total (TFC), uji DPPH dan FRAP, serta uji xantin oksidase telah dilakukan secara *in vitro* terhadap ekstrak metanol dan fraksi organik (petroleum eter, etil asetat, dan metanol) serbuk kering kulit batang songi. Hasil menunjukkan kandungan flavonoid, tannin, terpenoid, steroid, dan saponin dalam ekstrak metanol dari kulit batang. TPC dan TFC dalam ekstrak adalah 59.2 mg GAE/g dan 23.4 mg QE/g, sementara TPC dan TFC dalam fraksi organik adalah bergantung kepada polaritas pelarut yaitu metanol > etil asetat > petroleum eter. Ekstrak dan fraksi organik mampu menangkap radikal bebas DPPH dengan persentase penghambatan sebesar 48.2–59.7% pada konsentrasi 100 µg/mL dibandingkan dengan vitamin C, trolox, dan asam galat (90.3–93.8%). Nilai FRAP diperoleh bervariasi antara 0.8–3.4 µg/µg ekuivalen jumlah trolox dibandingkan dengan kuersetin dan asam galat (25.7 dan 32.4 µg/µg ekuivalen jumlah trolox). Ekstrak dan fraksi organik (etil asetat dan metanol) mampu menghambat aktivitas xantin oksidase dengan persentase penghambatan sebesar 15.3–50.3% pada konsentrasi 100 µg/mL dibandingkan dengan allopurinol (98.2%). Kajian menyimpulkan potensi antioksidan dan penghambatan enzim xantin oksidase oleh ekstrak metanol dan fraksi organik dari kulit batang Songi, sehingga tanaman ini dapat dimanfaatkan dalam pengembangan produk herbal dan obat.

Kata kunci: Dilleniaceae, *Dillenia serrata* Thunb., Fenolik, Flavonoid, Antioksidan, Xantin oksidase

PENDAHULUAN

Songi (*Dillenia serrata* Thunb.) adalah salah satu tanaman endemik di Sulawesi Tenggara. Tanaman ini juga tumbuh di beberapa daerah di Sulawesi dan dikenal dengan nama yang berbeda seperti Dongi atau Dengilo (Manado), Dengen (Sulawesi), dan Menampa (Tembuku) (Lim, 2012; Jansen *et al.*, 1992; Quattrochi, 2012). Di Sulawesi Tenggara, songi dikultivasi sebagai tanaman hias dan buahnya digunakan oleh masyarakat lokal untuk mengasamkan makanan dan minuman jus (Lim, 2012; Windardi *et al.*, 2006). Air rebusan kulit batang songi dimanfaatkan secara tradisional untuk mengobati muntah darah (Windardi *et al.*, 2006). Berdasarkan penelusuran literatur, hasil kajian saintifik tanaman songi masih kurang baik itu dari sisi kandungan kimia maupun aktivitas biologis. Penelitian terdahulu menunjukkan aktivitas anti-inflamasi ekstrak, fraksi, dan senyawa golongan triterpenoid dari tanaman ini yang diuji terhadap penghambatan biosintesis prostaglandin E₂ (PGE₂) dalam darah manusia (Jalil *et al.*, 2015). Pada kajian ini, ekstrak metanol dan fraksi organik (petroleum eter, etil asetat, dan metanol) dari kulit batang songi diuji aktivitasnya sebagai antioksidan dan penghambat xantin oksidase (XO).

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Instrumentasi yang digunakan adalah pembaca mikroplat Multiskan Go (Thermo, Waltham, USA). Bahan-bahan meliputi pelarut (petroleum eter, etil asetat, dan metanol), reagen Folin-Ciocalteu, aluminium klorida, natrium karbonat, asam hidroklorida, kalium dihidrogen fosfat, dimetil sulfoksida, difenil-pikrilhidrazil (DPPH), besi (III) klorida heksahidrat, 2,4,5-tri(2-piridil-triazin) (TPTZ) dan xantin (kemurnian 99%) diperoleh dari Merck (Darmstadt, Jerman) dan SigmaAldrich (St. Louis USA). Natrium asetat trihidrat dan asam asetat glasial diperoleh dari R&M Chemicals and Friendmann Schimdt (Parkwood, Australia). Enzim xantin oksidase diperoleh dari Roche (Penzberg, Jerman). Mikroplat menggunakan *f-bottom 96-well microplate (UV-Star, µClear)* yang diperoleh dari Greiner Bio One (Frickenhausen, Jerman).

Metode

Pengambilan sampel

Sampel kulit batang songi diambil dari hutan sekunder di kampung Onewila, Sulawesi Tenggara dan autentifikasi dilakukan oleh Herbarium Bogoriense dengan nomor spesimen BO-1902181. Sampel ekstrak metanol (EM) dan fraksi organik dari kulit batang songi diperoleh dari preparasi yang telah dilaporkan sebelumnya oleh Jalil *et al.* (2015). Sebanyak 2.5 kg serbuk kulit batang songi dimaserasi dengan 8 L metanol selama 3 x 24 jam. Ekstrak kental diperoleh sebanyak 600 g menggunakan *rotary evaporator*. Partisi berdasarkan polaritas terhadap ekstrak metanol dilakukan dalam corong pisah menggunakan metode ekstraksi cair-cair. Sebanyak 10 g ekstrak dilarutkan dalam pelarut metanol dan dipartisi secara berturut-turut menggunakan pelarut petroleum eter dan etil asetat. Partisi menghasilkan fraksi organik, yaitu fraksi petroleum eter (FPe), fraksi etil asetat (FEa), dan fraksi residu metanol (FMe).

Skrining fitokimia

Kandungan fitokimia dalam ekstrak metanol secara kualitatif diuji menggunakan metode yang telah dilaporkan oleh Ayoola *et al.* (2008) dan Nobakh *et al.* (2010). Skrining dilakukan terhadap alkaloid, tannin, flavonoid, terpenoid, steroid, dan saponin seperti pada Tabel 1.

Tabel 1. Skrining fitokimia ekstrak metanol (EM) kulit batang songi.

Fitokimia	Metode	Indikasi positif
Alkaloid	Ekstrak (20 mg) + 2.5 mL HCl 1% (dikocok selama 5 menit, disaring). Filtrat + 5 tetes pereaksi Dragendorff	Pembentukan warna oranye kemerahan dalam larutan
Tanin	Ekstrak (20 mg) + 5 mL H ₂ O (dilarutkan, disaring). Filtrat + 5 tetes FeCl ₃ 0.1%	Perubahan warna larutan menjadi hijau kecokelatan/biru kehitaman
Flavonoid	Ekstrak (20 mg) + 10 mL MeOH (dilarutkan, disaring). Filtrat + 1 mL HCl pekat + pita Mg (0.5 cm) (dipanaskan dalam <i>waterbath</i>)	Perubahan warna larutan menjadi kemerahan
Terpenoid	Ekstrak (20 mg) + 2 mL CH ₂ Cl ₂ (dilarutkan) + 3 mL H ₂ SO ₄ pekat (secara perlahan hingga terbentuk satu lapisan)	Perubahan warna cokelat kemerahan antara lapisan
Steroid	Ekstrak (20 mg) + 1 mL MeOH (dilarutkan, disaring). Filtrat + 1 mL CHCl ₃ + 1 mL H ₂ SO ₄ pekat	Perubahan warna larutan menjadi kuning kehijauan fluoresens
Saponin	Ekstrak (20 mg) + 5 mL H ₂ O (dipanaskan hingga mendidih, disaring). Filtrat (digoncang kuat)	Pembentukan lapisan buih pada bagian atas larutan

Estimasi kandungan fenolik total

Kandungan fenolik total (*Total Phenolic Content*, TPC) dalam ekstrak metanol dan fraksi organik dari kulit batang songi ditentukan menggunakan metode Folin-Ciocalteu (ISO 14502, 2005). Sebanyak 20 µL larutan sampel (0.1 mg/mL dalam DMSO) dimasukkan kedalam mikroplat 96-*well*, ditambahkan 100 µL reagen Folin-Ciocalteu (10%, v/v), dan diinkubasi selama 5 menit pada suhu ruang. Campuran kemudian ditambahkan 80 µL larutan Na₂CO₃ (75%, v/v), dikocok, dan diinkubasi kembali selama 30 menit pada kondisi gelap dan suhu ruang. Absorbansi dibaca pada 735 nm terhadap blanko sampel dan pelarut. Konsentrasi kandungan fenolik total dalam ekstrak metanol dan fraksi organik dihitung dengan menginterpolasikan nilai absorbansi dalam persamaan kurva linear standar asam galat (0.01–0.1 mg/mL): Absorbansi = 4.0418 x asam galat (mg) + 0.0003 ($r^2 = 0.999$). Kandungan fenolik total dinyatakan sebagai miligram dari ekuivalen asam galat per gram sampel (mg GAE/g).

Estimasi kandungan flavonoid total

Kandungan flavonoid total (*Total Flavonoid Content*, TFC) ditentukan menggunakan metode kolometrik aluminium (Yang *et al.*, 2011). Sebanyak 100 μL larutan sampel (0.1 mg/mL dalam DMSO) dimasukkan kedalam mikroplat 96-*well*, ditambahkan 100 μL larutan AlCl_3 (2%, v/v), dan diinkubasi selama 15 menit pada suhu ruang. Absorbansi kemudian dibaca pada 435 nm terhadap blanko sampel dan pelarut. Konsentrasi kandungan flavonoid total dalam ekstrak metanol dan fraksi dihitung menggunakan persamaan dari kurva linear standar kuersetin (0.01–0.1 mg/mL): Absorbansi = $6.888 \times \text{kuersetin (mg)} + 0.0159$ ($r^2 = 0.999$). Kandungan flavonoid total dinyatakan sebagai miligram dari ekuivalen kuersetin per gram sampel (mg QE/g).

Uji penangkapan radikal bebas DPPH

Uji aktivitas penangkapan radikal bebas dilakukan menggunakan metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) (Clarke *et al.*, 2013). Sebanyak 100 μL larutan sampel dan kontrol positif yaitu asam askorbat, trolox, asam galat, dan kuersetin (100–1.6 $\mu\text{g/mL}$) dimasukkan kedalam mikroplat 96-*well* dan ditambahkan 100 μL larutan DPPH (10%, v/v). Campuran diinkubasi selama 15 menit pada kondisi gelap dan suhu ruang. Absorbansi dibaca pada 540 nm (λ_{maks} DPPH dalam DMSO) terhadap blanko sampel dan pelarut (DMSO). Kemampuan sampel untuk menangkap radikal bebas DPPH dihitung menggunakan persamaan: %Aktivitas penangkapan (%SA) = $[(A_k - A_s)/A_k] \times 100$, dimana A_k adalah absorbansi kontrol DPPH dan A_s adalah absorbansi sampel setelah koreksi blanko. Nilai EC_{50} dihitung menggunakan GraphPad Prism 5.

Uji reduksi ion besi (FRAP)

Uji aktivitas reduksi dilakukan menggunakan metode FRAP (*ferric reduction antioxidant power*) (Yang *et al.*, 2011). Sebanyak 20 μL larutan sampel (100 $\mu\text{g/mL}$ dalam DMSO) dimasukkan kedalam mikroplat 96-*well* dan ditambahkan 180 μL reagen FRAP (300 mM larutan penyangga asetat pH 3.6, 20 mM TPTZ dalam 40 mM HCl, dan 20 mM besi (III) klorida, rasio 10:1:1, v/v/v). Campuran dikocok selama 10 detik dan diinkubasi selama 4 menit pada suhu 37°C. Absorbansi dibaca pada 593 nm terhadap blanko sampel dan pelarut. Asam galat dan kuersetin digunakan sebagai kontrol positif. Nilai FRAP dihitung menggunakan persamaan dari kurva kalibrasi linear trolox (100–0.8 $\mu\text{g/mL}$): Absorbansi = $0.078 \times \text{trolox } (\mu\text{g}) + 0.004$ ($r^2 = 0.999$). Nilai FRAP dinyatakan sebagai mikrogram per mikrogram jumlah trolox ekuivalen ($\mu\text{g}/\mu\text{g}$).

Uji xantin oksidase (XO)

Uji aktivitas penghambatan XO dilakukan menggunakan metode spektrofotometri (Seruji *et al.*, 2012). Sampel dan allopurinol dipreparasi dalam DMSO dan diencerkan menggunakan larutan penyangga fosfat (PBS, pH 7.5) hingga diperoleh larutan kerja dengan konsentrasi 2.5 mg/mL. Sebanyak 10 μL larutan sampel dan allopurinol dimasukkan kedalam masing-masing *well* dan ditambahkan 130 μL PBS (pH 7.5) dan 10 μL larutan enzim XO (0.2 unit/mL). Campuran kemudian diinkubasi selama 15 menit pada suhu 25°C. Setelah inkubasi, campuran ditambahkan 100 μL larutan xantin (0.15 mM, pH 7.5) dan diinkubasi kembali selama 10 menit pada suhu 25°C. Absorbansi diukur pada 295 nm menggunakan pembaca mikroplat. Persentase penghambatan (%I) dihitung menggunakan persamaan: %I = $1 - [(A-B) - (C-D)/(A-B)] \times 100$, dimana A adalah absorbansi enzim XO tanpa sampel, B adalah absorbansi blanko tanpa enzim XO dan sampel, C absorbansi enzim XO dan sampel, dan D adalah absorbansi sampel tanpa enzim XO.

Analisis statistika

Data pengujian diperoleh secara triplikasi dan disajikan dalam *mean* \pm *standard deviation* (SD). Analisis statistika dilakukan menggunakan GraphPad Prism 5 Software (GraphPad Inc., California, USA). Perbedaan diantara grup dibandingkan menggunakan *Analysis of Variance* (ANOVA) dengan uji Tukey ($p < 0.05$). Korelasi Pearson digunakan untuk mengukur signifikansi antara parameter.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kandungan fitokimia

Pemanfaatan bahan alam dan produk herbal dalam pengobatan telah menjadi alternatif oleh masyarakat di negara-negara berkembang termasuk Indonesia. Sekitar 60% populasi dunia menggunakan pengobatan herbal dan 80% populasi dinegara berkembang menjadikan herbal sebagai kebutuhan kesehatan primer (WHO, 2013). Genus *Dillenia* adalah salah satu genus tanaman dalam keluarga Dilleniaceae. Genus ini memiliki sekitar 100 spesies yang terdiri dari pohon dan semak belukar yang tersebar di Madagascara hingga Asia selatan dan Asia Tenggara. Di Indonesia, dua spesies *Dillenia* banyak ditemukan, yaitu *D. indica* Linn. dan *D. serrata* Thunb. yang masing-masing tersebar di Jawa dan Sulawesi. Kedua spesies ini digunakan secara tradisional oleh masyarakat lokal sebagai bahan herbal dan obat-obatan rakyat. Kandungan fitokimia dari spesies dalam genus *Dillenia* didominasi oleh flavonoid dan triterpen, termasuk *seco*-triterpen (Sabandar et al., 2017). Pada kajian ini, skrining fitokimia secara kualitatif menunjukkan kandungan flavonoid dan terpenoid, termasuk steroid dalam ekstrak metanol dari kulit batang songi (Tabel 2).

Tabel 2. Kandungan fitokimia kualitatif dalam ekstrak metanol (EM) kulit batang songi.

Fitokimia	Hasil
Alkaloid	-
Tanin	+
Flavonoid	+
Terpenoid	+
Steroid	+
Saponin	-

Kajian fitokimia dari kulit akar songi sejauh ini telah melaporkan kandungan triterpen yaitu asam betullinik, asam koetjapik, dan asam 3-oxoolean-12-en-30-olat. Asam betullinik dan asam koetjapik merupakan senyawa kimia penanda untuk spesies ini (Jalil et al., 2015). Oleh karena itu, kedua senyawa ini mungkin terkandung dalam ekstrak metanol dari kulit batang songi. Hasil skrining juga menunjukkan bahwa ekstrak metanol dari kulit batang songi tidak mengandung alkaloid dan saponin.

Kandungan fenolik total dan kandungan flavonoid total

Sejalan dengan kandungan fitokimia, estimasi kandungan fenolik dan flavonoid total dalam ekstrak metanol dari kulit batang songi menunjukkan jumlah yang cukup banyak yaitu sebesar 5.92% fenolik dan 2.34% flavonoid untuk setiap gram ekstrak (Tabel 3). Kandungan fenolik dan flavonoid paling banyak terdistribusi dalam fraksi metanol yang menunjukkan kandungan senyawa polar dalam fraksi ini. Sejumlah fenolik dan flavonoid juga terdistribusi dalam fraksi etil asetat yang mengindikasikan golongan fenolik dan flavonoid yang bersifat semi polar dalam ekstrak metanol dari kulit batang songi. Sementara itu, fraksi petroleum eter memiliki kandungan fenolik dan flavonoid paling sedikit dibandingkan fraksi lain.

Tabel 3. Kandungan fenolik total dan flavonoid total dalam ekstrak metanol dan fraksi organik kulit batang songi. Nilai dengan simbol ([†], [‡], [#], [§]) yang berbeda pada kolom yang sama adalah berbeda signifikan (p<0.05) diuji menggunakan uji Tukey.

Sampel	Kandungan fenolik total (mg GAE/g)	Kandungan flavonoid total (mg QE/g)
Ekstrak metanol (EM)	59.23 ± 0.25 [†]	23.39 ± 0.65 [†]
Fraksi petroleum eter (FPe)	1.45 ± 0.01 [‡]	0.00 ± 0.13 [‡]
Fraksi etil asetat (FEa)	27.08 ± 0.05 [#]	7.23 ± 0.06 [#]
Fraksi metanol (FMe)	97.46 ± 0.60 [§]	11.06 ± 1.08 [§]

Aktivitas Antioksidan

Proses perkembangan penyakit seperti kanker, diabetes, penyakit kardiovaskular, Alzheimer, dan penyakit degeneratif lainnya telah dikaitkan dengan oksidatif stres yang terakumulasi dalam tubuh manusia. Oksidatif stres terjadi akibat ketidakseimbangan antara prooksidan dan antioksidan endogen dalam tubuh yang mampu merusak sel dan jaringan (Biswas, 2016; Reuter *et al.*, 2010). Berbagai metode telah dikembangkan untuk menguji aktivitas antioksidan oleh ekstrak dan senyawa dari produk herbal dan bahan alam. Salah satu metode yang sering digunakan adalah reaksi penangkapan radikal bebas DPPH secara *in vitro*. Metode lain ialah FRAP (*ferric ion reducing antioxidant power*) dengan mekanisme reduksi ion Fe^{3+} menjadi Fe^{2+} oleh senyawa antioksidan. Mekanisme kedua metode ini merupakan reaksi transfer elektron antara radikal bebas/ion Fe^{3+} dan senyawa antioksidan (Huang *et al.*, 2005; Apak *et al.*, 2013). Pengujian antioksidan menggunakan model DPPH menunjukkan aktivitas penangkapan radikal bebas yang moderat oleh ekstrak metanol dan fraksi organik (etil asetat dan metanol) kulit batang songi (Tabel 4). Aktivitas ini dibandingkan dengan senyawa antioksidan kuat, yaitu asam askorbat, trolox, asam galat, dan kuersetin. Penentuan nilai EC_{50} menunjukkan dosis efektif oleh ekstrak dan fraksi organik untuk menangkap 50% radikal bebas DPPH yang diujikan, yaitu berkisar antara 153.5–277.2 $\mu\text{g/mL}$. Korelasi Pearson menjelaskan pengaruh kandungan fenolik total dan flavonoid total terhadap aktivitas antioksidan oleh ekstrak metanol dan fraksi organik (Tabel 5). Analisis ini menunjukkan bahwa kandungan fenolik total dan flavonoid total tidak berpengaruh signifikan terhadap aktivitas penangkapan radikal bebas oleh ekstrak metanol dan fraksi organik dari kulit batang songi. Baik fenolik maupun flavonoid umumnya telah dijadikan sebagai penentu utama aktivitas antioksidan dalam tumbuhan dan makanan (Heim *et al.*, 2002). Namun demikian, aktivitas antioksidan yang baik tidak selamanya berkaitan dengan kandungan fenolik dan flavonoid yang banyak (Yang *et al.*, 2011). Selain itu, pengaruh senyawa mayor dapat mempengaruhi aktivitas antioksidan yang dihasilkan oleh ekstrak, baik itu efek sinergis ataupun efek antagonis (Crespo *et al.*, 2019). Kajian sebelumnya menjelaskan asam betulinik sebagai senyawa mayor yang dihasilkan oleh tanaman songi (Jalil *et al.*, 2015; Sabandar *et al.*, 2017). Asam betulinik menunjukkan aktivitas penangkapan radikal bebas yang lemah (Adesanwo *et al.*, 2013). Oleh itu, kandungan senyawa mayor ini diduga memberikan efek berlawanan terhadap aktivitas penangkapan radikal DPPH oleh ekstrak kulit batang songi. Selanjutnya, korelasi Pearson menunjukkan korelasi kuat antara kandungan fenolik total dan aktivitas reduksi oleh ekstrak dan fraksi organik tersebut dengan nilai korelasi (r) sebesar +0.9967 ($p < 0.05$). Nilai ini menjelaskan bahwa aktivitas reduksi akan meningkat seiring dengan peningkatan jumlah fenolik dalam ekstrak dan fraksi organik. Dengan demikian, golongan senyawa fenolik dari kulit batang songi memiliki potensi sebagai antioksidan alami yang dapat dikembangkan dalam preparasi herbal dan obat-obatan.

Tabel 4. Aktivitas antioksidan ekstrak metanol dan fraksi organik kulit batang songi. Nilai dengan simbol (\dagger , \ddagger , $\#$, \S , \parallel) yang berbeda pada kolom yang sama adalah berbeda signifikan ($p < 0.05$) diukur menggunakan uji Tukey.

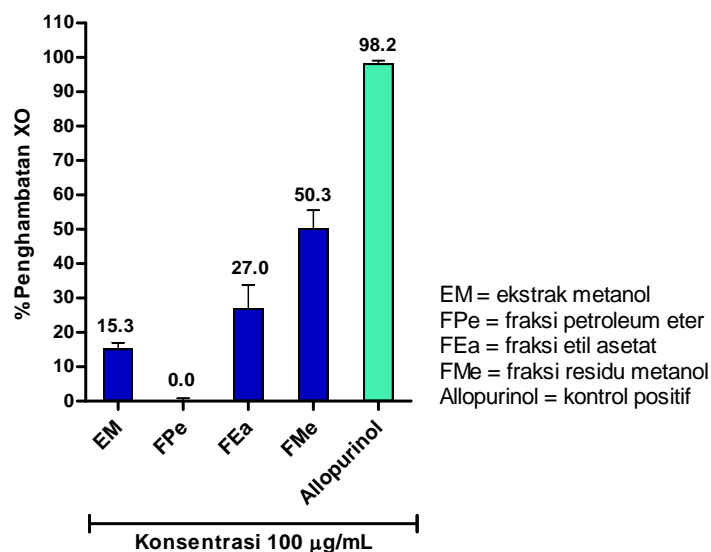
Sampel	DPPH		FRAP
	%SA (pada 100 $\mu\text{g/mL}$)	EC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	($\mu\text{g}/\mu\text{g}$ jumlah trolox ekuivalen)
Ekstrak metanol	$59.5 \pm 1.1^{\dagger}$	254.2^{\dagger}	$1.8 \pm 0.1^{\dagger}$
Fraksi petroleum eter	$48.2 \pm 0.9^{\ddagger}$	-	$0.0 \pm 0.0^{\ddagger}$
Fraksi etil asetat	$54.0 \pm 1.1^{\#}$	277.2^{\ddagger}	$0.8 \pm 0.03^{\ddagger, \#}$
Fraksi metanol	$59.7 \pm 1.9^{\dagger}$	$153.5^{\#}$	$3.4 \pm 0.1^{\#}$
Asam askorbat	$92.4 \pm 0.1^{\S}$	1.2^{\S}	-
Trolox	$90.3 \pm 0.02^{\S}$	$2.5^{\S, \parallel}$	-
Asam galat	$91.2 \pm 0.1^{\S}$	1.4^{\S}	$32.4 \pm 0.5^{\S}$
Kuersetin	$66.8 \pm 0.8^{\parallel}$	3.8^{\parallel}	$25.8 \pm 0.8^{\parallel}$

Tabel 5. Korelasi Pearson (r) dan kurva regresi linear (r^2) antara kandungan fenolik total dan flavonoid total terhadap DPPH, FRAP, dan XO. ^aKorelasi signifikan ($p < 0.05$, *two-tailed*).

Parameter	Pearson (r)	Kurva linear (r^2)
TPC x DPPH	+0.9172	0.8413
TPC x FRAP	+0.9967 ^a	0.9935
TPC x XO	+0.8526	0.7269
TFC x DPPH	+0.8480	0.7191
TFC x FRAP	+0.5358	0.2871
TFC x XO	+0.2316	0.0536

3.4. Aktivitas Penghambatan Xantin Oksidase

Xantin oksidase (XO) merupakan enzim yang berperan penting dalam katabolisme senyawa-senyawa purin dalam tubuh manusia. Produk akhir dari katabolisme purin adalah asam urat yang disekresikan oleh ginjal. Dalam proses ini, spesies oksigen reaktif seperti anion radikal superoksida dan hidrogen peroksida dihasilkan (Kostić *et al.*, 2015). Aktivitas XO yang berlebihan akan menyebabkan akumulasi asam urat yang tinggi dalam plasma darah (hiperurisemia) dan memicu perkembangan penyakit seperti *gout* dan gangguan ginjal (El Ridi & Tallima, 2017). Oleh karena itu, pencarian agen penghambat aktivitas XO dilakukan baik melalui jalur sintesis maupun yang bersumber dari bahan alam. Pada kajian ini, ekstrak metanol dan fraksi organik dari kulit batang songi telah diuji aktivitasnya sebagai penghambat enzim XO. Potensi aktivitas ditunjukkan oleh fraksi metanol dari kulit batang songi yang mampu menghambat 50.3% aktivitas XO pada konsentrasi 100 µg/mL (Gambar 1). Namun demikian, uji Tukey menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 0.05$) antara aktivitas fraksi metanol dan allopurinol sebagai kontrol positif dalam pengujian. Allopurinol merupakan obat klinis yang digunakan dalam penatalaksanaan arthritis gout (Nile *et al.*, 2019). Korelasi Pearson menjelaskan hubungan yang lemah antara kandungan fenolik total dan flavonoid total dengan aktivitas penghambatan XO (Tabel 5). Aktivitas penghambatan XO oleh ekstrak metanol dan fraksi organik juga dapat dipengaruhi oleh kehadiran golongan senyawa triterpen seperti asam betulunik dan asam koetjapik yang merupakan senyawa penanda kimia dari tanaman songi (Jalil *et al.*, 2015). Kajian sebelumnya telah melaporkan potensi asam betulunik dalam menghambat aktivitas XO dengan nilai IC_{50} sebesar 12.6 µg/mL (Nile *et al.*, 2019). Sementara itu, aktivitas asam koetjapik terhadap penghambatan XO masih perlu diteliti lebih lanjut.



Gambar 1. Aktivitas penghambatan xantin oksidase ekstrak metanol dan fraksi organik kulit batang songi.

KESIMPULAN

Kajian ini menyimpulkan bahwa ekstrak metanol dan fraksi organik (etil asetat dan metanol) dari kulit batang songi memiliki aktivitas pengangkapan radikal bebas DPPH (48.2–59.7%) dan reduksi ion besi (0.8–3.4 µg/µg ekuivalen jumlah trolox) pada konsentrasi 100 µg/mL. Pada konsentrasi yang sama, fraksi metanol dari ekstrak metanol memiliki aktivitas penghambatan enzim xantin oksidase (50.3%). Dengan demikian, kulit batang songi berpotensi sebagai sumber alami agen antioksidan dan penghambat xantin oksidase. Hasil kajian ini mendukung pemanfaatan tanaman songi dalam pengembangan herbal dan obat-obatan alami.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis berterimakasih kepada Universiti Kebangsaan Malaysia atas dukungan fasilitas penelitian (instrumentasi dan bahan) yang telah diberikan.

DAFTAR PUSTAKA

- Adesanwo, J. K., Makinde, O. O., Obafemi, C. A. (2013). Phytochemical analysis and antioxidant activity of methanol extract and betulinic acid isolated from the roots of *Tetracera potatoria*. *Journal of Pharmacy Research*, 6, 903-907.
- Apak, R., Gorinstein, S., Böhm, V., Schaich, K. M., Özyürek, M., Güçlü, K. (2013). Methods of measurement and evaluation of natural antioxidant capacity/activity (IUPAC technical report). *Pure and Applied Chemistry*, 85, 957-998.
- Ayoola, G. A., Coker, H. A. B., Adesegun, S. A., Adepoju-Bello, A. A., Obaweya, K., Ezennia, E. C., Atangbayila, T. O. (2008). Phytochemical screening and antioxidant activities of some selected medicinal plants used for malaria therapy in Southwestern Nigeria. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 7, 1019-1024.
- Biswas, S.K. (2016). Does the interdependence between oxidative stress and inflammation explain the antioxidant paradox?. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016, 5698931.
- Crespo, Y.A., Sánchez, L.R.B., Quintana, Y.G., Cabrera, A.S.T., Sol, A.B., Mayancha, D.M.G. (2019). Evaluation of the synergistic effects of antioxidant activity on mixtures of the essential oil from *Apium graveolens* L., *Thymus vulgaris* L. and *Coriandrum sativum* L. using simplex-lattice design. *Heliyon*, 5, e01942.
- El Ridi, R., Tallima, H. (2017). Physiological functions and pathogenic potential of uric acid: a review. *Journal of Advanced Research*, 8, 487-493.
- Heim, K.E., Tagliaferro, A.R., Bobilya, D.J. (2002). Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 13, 572-584.
- Huang, D., Ou, B., Prior, R. L. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 1841-1856.
- ISO 14502-1 (2005). *Determination of substances characteristic of green and black tea. Part 1: content of total polyphenols in tea-colorimetric method using Folin-Ciocalteu reagent*. International Organization for Standardization.
- Jalil, J. Sabandar, C. W., Ahmat, N., Jamal, J. A., Jantan, I., Aladdin, N. -A., Muhammad, K., Buang, F., Mohamad, H. F., Sahidin, I. (2015). 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*, 20, 3206-3220.

- Jansen, P. C. M., Jukema, J., Oyen, L. P. A., van Lingen, T. G. (1992). *Dillenia serrata* Thunb. In Verheij, E. W. M., Coronol, R. E. (Eds.), *Plant resources of South-East Asia No. 2: edible fruit and Nuts* (p. 328). Bogor: Prosea Foundation.
- Kostić, D. A., Dimitrijević, D. S., Stojanović, G. S., Palić, I. R., Đorđević, S., Ickovski, D. (2015). Xanthine oxidase: isolation, assays of activity, and inhibition. *Journal of Chemistry*, 2015, 294858.
- Lim, T. K. (2012). *Edible Medicinal and Non-Medicinal Plants: Volume 2, Fruits*. Heidelberg: Springer.
- Nile, S. H., Nile, A., Liu, J., Kim, D. H., Kai, G. (2019). Exploitation of apple pomace towards extraction of triterpenic acids, antioxidant potential, cytotoxic effects, and inhibition of clinically important enzymes. *Food and Chemical Toxicology*, 131, 110563.
- Nobakht, G. M., Kadir, M. A., Stanslas, J. (2010). Analysis of preliminary phytochemical screening of *Typhonium flagelliforme*. *African Journal of Biotechnology*, 9, 1655-1657.
- Quattrocchi, U. F. L. S. (2012). *CRC world dictionary of medicinal and poisonous plants*. New York: CRC Press.
- Reuter, S., Gupta, S. C., Chaturvedi, M. M., Aggarwal, B. B. (2010). Oxidative stress, inflammation, and cancer: how are they linked?. *Free Radical Biology and Medicine*, 49, 1603-1616.
- Sabandar, C. W., Jalil, J., Ahmat, N., Aladdin, N. -A. (2017). Medicinal uses, chemistry and pharmacology of *Dillenia* species (Dilleniaceae). *Phytochemistry*, 134, 6-25.
- Seruji, N. M. U., Khong, H. Y., Kutoi, C. J. (2012). Antioxidant, anti-inflammatory, and cytotoxic activities of *Garcinia nervosa* (Clusiaceae). *Journal of Chemistry*, 2013.
- WHO (World Health Organization), 2013. *WHO traditional medicine strategy 2014–2023*. Switzerland: WHO Press.
- Windardi, F. I., Rahayu, M., Uji, T., Rustiami, H. (2006). Pemanfaatan tumbuhan sebagai bahan obat oleh masyarakat lokal suku Muna di kecamatan Wakarumba, kabupaten Muna, Sulawesi Utara. *Biodiversitas*, 7, 339-339.
- Yang, H., Dong, Y., Du, H., Shi, H., Peng, Y., Li, X. (2011). Antioxidant compounds from propolis collected in Anhui, China. *Molecules*, 16, 3444-3455.