

POTENSI EKSTRAK DAUN ASAM KERANJI (*Dialium indum*) ACEH SEBAGAI ANTIOKSIDAN ALAMI

Syafrina Sari Lubis¹⁾, Ayu Nirmala Sari²⁾, M. Haikal Fahmi³⁾, Diky Setya Diningrat^{4*)}

^{1,2,3}Prodi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, UIN Ar-Raniry Banda Aceh,

^{4*)}Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Medan, Medan, Sumatera Utara

^{4*)}Corresponding Author e-mail: dikysd@unimed.ac.id

Informasi	Abstrak.
Kata kunci. <i>Dialium indum</i> , DPPH, fitokimia	Penelitian ini dilakukan untuk menguji aktivitas fitokimia ekstrak etanol asam keranji (<i>Dialium indum</i>) sebagai antioksidan secara <i>in vitro</i> . Aktivitas antioksidan yang dilakukan dalam beberapa model pengujian antioksidan secara <i>in vitro</i> yaitu menguji aktivitas reduksi radikal bebas DPPH, radikal superoksida, daya pereduksi <i>ferric</i> dan aktivitas hidrogen peroksida. Kapasitas total antioksidan juga ditentukan. Ekstrak etanol asam keranji menunjukkan aktivitas antioksidan dengan menghambat DPPH, superoksida dan hidrogen peroksida. Pada penelitian ini juga menunjukkan kemampuan ekstrak etanol asam keranji mengurangi kemampuan dalam mereduksi besi. Kapasitas total antioksidan ekstrak etanol asam keranji 17,66 mg/g yang dibandingkan dengan asam askorbat (Vitamin C). Aktivitas antioksidan yang signifikan dari ekstrak etanol <i>Dialium indum</i> diduga disebabkan oleh adanya senyawa Asam, Flavonoid, Fenol, Saponin, Tannin (senyawa Fenolik) dan Triterpenoid yang ditemukan dalam <i>screening</i> fitokimia sebelumnya.
Information	Abstract.
Key words. <i>Dialium indum</i> , DPPH, phytochemical	<i>Preliminary phytochemical screening and in-vitro antioxidant activity of Dialium indum extract were investigated. The antioxidant activity was studied in some in-vitro antioxidant models like DPPH radical scavenging activity, superoxide radical scavenging activity, ferric reducing power and hydrogen peroxide scavenging activity. Total antioxidant capacity was also determined. The Dialium indum alcoholic extract showed antioxidant activity by inhibiting DPPH, scavenging superoxide and hydrogen peroxide. It also showed reducing power ability in ferric reducing model. Total antioxidant capacity was found to be 17.66 mg/g expressed as ascorbic acid. Significant antioxidant activity of alcoholic extract of Dialium indum was found which might be due to the presence of Acidic compounds, Flavonoids, Phenols, Saponins, Tannis (Phenolic compounds) and Triterpenoids found in the preliminary phytochemical screenin</i>

Received: 10 Maret 2021

Accepted: 10 Mei 2021

© 2021 Jurusan Biologi FMIPA Unpatti, IAIFI Cab. Ambon

A. PENDAHULUAN

Oksigen merupakan komponen yang sangat esensial untuk kelangsungan hidup semua organisme di bumi ini. Oksigen berperan dalam proses fisiologi dan metabolisme, sekitar 5% oksigen tereduksi secara univalen menjadi oksigen yang merupakan turunan dari radikal bebas seperti superoksida, hidrogen peroksida, hidroksil, dan radikal oksida nitrat. Semua radikal bebas ini dikenal sebagai spesies oksigen reaktif (ROS) yang menjadi penanda stres oksidatif pada sel-sel tubuh manusia yang membuat setiap sel menghadapi sekitar 10.000 hit oksidatif per detik (Mondal *et al.*, 2008).

Antioksidan ditambahkan sebagai sistem redoks yang memiliki potensi oksidatif yang lebih tinggi daripada obat yang dirancang untuk melindungi atau sebagai penghambat rantai dari penguraian radikal yang diinduksi. Secara umum, efek antioksidan adalah memecah rantai yang terbentuk selama proses propagasi dengan memberikan atom hidrogen atau elektron ke radikal bebas dan menerima energi berlebih yang dimiliki oleh molekul teraktivasi (Lachman *et al.*, 1986). Pada penelitian sebelumnya buah-buahan, sayuran, tumbuhan alami dilaporkan mengandung berbagai macam zat yang disebut phytochemical yang ada dalam tanaman dan merupakan sumber antioksidan utama yang dapat mengurangi potensi stres yang disebabkan oleh ROS. Antioksidan alami memiliki kemampuan mereduksi radikal bebas, agen pereduksi, kompleks potensial dari prooksidan, pendingin oksigen dan lain-lain (Ebadi, 2002)

Antioksidan dapat mengganggu proses oksidasi dengan bereaksi dengan radikal bebas (Gupta *et al.*, 2004). Perkembangan pesat dalam penemuan antioksidan alami untuk digunakan dalam makanan atau bahan obat untuk menggantikan antioksidan sintetis yang sedang dibatasi penggunaannya karena efek sampingnya seperti karsinogenisitas (Kumaran *et al.*, 2007). Prinsip-prinsip antioksidan dari sumber daya alam memiliki banyak segi dalam banyak dan besarnya aktivitas mereka dan menyediakan ruang lingkup yang sangat besar dalam memperbaiki ketidakseimbangan (Shriwaikar *et al.*, 2006). Industri makanan menggunakan antioksidan alami sebagai pengganti antioksidan sintetis konvensional (Govindarajan, 2003).

Kranji (*Dialium indum* L.) berbentuk seperti kelereng, dengan kulit yang agak keras berwarna hitam, daging buah berwarna orange ataupun hitam, yang memiliki rasa yang asam manis dan biji yang keras berwarna coklat muda (Osman *et al.*, 2018). Buah keranji merupakan buah musiman, di Indonesia pohon ini berbunga dari Nopember-Desember dan berbuah hingga siap panen antara bulan Januari-April setiap 1 tahun sekali (Rifkowitz dan Muttaqin, 2016).

Hasil analisis GCMS pada daun mengandung lupeol, β -Amirin, stigmasterol, pentriacontane, hentriacontane, α dan β klorofil, resin, asam tartarat, campuran triterpen saponin, derivatif antrakuinon, alkaloid, betain, kolin dan trimetilamin (Osman *et al.*, 2018). *Dialium indum* ini dipercaya sebagai antivirus, diuretik, anti alergi, antibiotik, sakit perut, sebagai pembersih darah dan rematik (Akoji, 2019). Oleh karena itu, tujuan dari penelitian ini adalah evaluasi in vitro aktivitas antioksidan ekstrak daun *Dialium indum*.

B. METODE PENELITIAN

Bahan kimia: Asam askorbat, rutin, gallic acid, hidrogen peroksida, kalium ferricyanide, trikloroasetat asam, besiklorida, reagen Folin-Ciocalteu, indigosulphonic asam, α - α difenil β picryl hydrazyl (DPPH), Riboflavin, Nitro Biru Tetrazolium (NBT) dan Dimetil sulfoksida (DMSO) semuanya dibeli dari bahan kimia SD-fine, India, semua pereaksi lainnya yang digunakan memiliki tingkat analitis.

Alat: Spektrofotometer UV (Shimadzu-UV-1601), Mesin *Centrifuge* (Eltek-research centrifuge-TC-4100D).

Bahan tanaman: Daun *Dialium indum* dikumpulkan secara lokal dari daerah sekitar Banda Aceh. Ekstraksi Bahan Tumbuhan: Bahan tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun *Dialium indum* dikumpulkan secara lokal dari daerah sekitar Banda Aceh.

Daun *Dialium indum* segar yang akan diteliti ditimbang dan dicuci bersih dengan air, dikeringkan dengan cara diangin-anginkan (tanpa terkena sinar matahari langsung). Daun *Dialium indum* yang telah kering kemudian dihaluskan menggunakan blender hingga menjadi serbuk, ditimbang kemudian diayak dengan menggunakan mesh 30 hingga diperoleh serbuk halus.

Pembuatan Ekstrak Etanol Daun kranji 100 gram serbuk daun katuk yang telah dikeringkan dan dihaluskan dengan derajat kehalusan tertentu dimaserasi kinetik selama 1 jam dengan menggunakan pelarut etanol 96% atau 80% sebanyak 800 ml, didiamkan semalam kemudian disaring dan dipisahkan ampas dan filtratnya. Pada ampas dilakukan maserasi kinetik ulang (maserasi kinetik ulang dilakukan 3 kali). Dari filtrat yang didapat dikumpulkan dan campuran ekstrak tersebut dipekatkan dengan *rotary evaporator* dan diuapkan diatas waterbath $\pm 60^{\circ}\text{C}$ sampai didapatkan bobot konstan. Kemudian hasilnya ditimbang pada cawan yang telah ditara dan disimpan dalam eksikator.

Persiapan Larutan Stok *Dialium* : Ekstrak etanol *Dialium* disiapkan pada konsentrasi 1.000 $\mu\text{g} / \text{ml}$ dalam etanol. Dari larutan stok konsentrasi yang berbeda yaitu. 10, 20, 40, 60, 80 dan 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ disiapkan dalam etanol dan digunakan untuk studi antioksidan.

Persiapan Solusi Stok Standar Asam askorbat (Vitamin C). Asam askorbat digunakan sebagai standar untuk penelitian ini dan larutan stoknya disiapkan dalam konsentrasi 1.000 $\mu\text{g} / \text{ml}$ dalam metanol. Itu disiapkan segar dan segera digunakan untuk penelitian. Dari larutan stok konsentrasi yang berbeda yaitu. 10, 20, 40, 60, 80 dan 100 $\mu\text{g} / \text{ml}$ disiapkan dalam metanol dan digunakan untuk studi antioksidan .

Total Kapasitas Antioksidan: Total uji kapasitas antioksidan, 0,3ml yang *Dialium* ekstrak (10 mg/ml) dilarutkan dalam air dan dicampur dengan 3 ml reagen solusi (asam 0,6 M sulfat, 28mm natrium fosfat dan 4 mM amonium molibdat) di Eppendorf tube. Tabung ditutup dan diinkubasi dalam blok termal pada 95°C selama 90 menit. Setelah 90 menit, campuran didinginkan hingga suhu kamar , absorbansi diukur pada 695 nm terhadap reagen kosong. Metanol (0,3 ml) di tempat ekstrak digunakan sebagai kosong. Asam askorbat digunakan sebagai standar dan total kapasitas antioksidan dinyatakan sebagai padanan asam askorbat (Kumaran, 2007).

C. HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Kegiatan Pembersihan Radikal DPPH. Ekstrak tumbuhan dan larutan asam askorbat standar (0,1 ml) dengan konsentrasi berbeda, yaitu. 10, 20, 40, 60, 80 dan 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ditambahkan ke 3 ml larutan metanol DPPH 0,004%. Jumlah metanol dan DPPH yang sama berperan sebagai kontrol. Setelah 30 menit inkubasi dalam gelap, absorbansi tercatat pada 517 nm, dan persentase aktivitas penghambatan dihitung dari $[(A_0 - A_1) / A_0] \times 100$, di mana A_0

adalah absorbansi kontrol, dan A1 adalah absorbansi dari ekstrak / standar. Aktivitas antioksidan ekstrak dinyatakan sebagai IC50. Nilai IC50 didefinisikan sebagai konsentrasi (dalam $\mu\text{g/ml}$) ekstrak yang menghambat pembentukan radikal DPPH sebesar 50%. Semua tes dilakukan dalam rangkap tiga dan grafik diplot dengan rata-rata tiga pengamatan (Kumaran , 2007).

Kegiatan Pemulungan Radikal Superoksida. Setiap campuran reaksi 3ml mengandung 50 mM buffer natrium fosfat (pH 7,6), 20 mg riboflavin, dan 12 mM EDTA dan 0,1 mg NBT dan 1 ml larutan sampel. Reaksi dimulai dengan menerangi campuran reaksi dengan konsentrasi ekstrak tanaman yang berbeda dan larutan asam askorbat standar yaitu. 10, 20, 40, 60, 80 dan 100 $\mu\text{g/ml}$ selama 5 menit. Segera setelah penerangan, absorbansi diukur pada 590 nm. Tabung identik dengan campuran reaksi dan 1 ml metanol disimpan dalam kegelapan dan berfungsi sebagai kontrol. Persentase penghambatan generasi anion superoksida dihitung dari $[(A0-A1) / A0] \times 100$, di mana A0 adalah absorbansi kontrol, dan A1 adalah absorbansi ekstrak/ standar. Aktivitas antioksidan ekstrak dinyatakan sebagai IC50. Semua tes dilakukan dalam rangkap tiga dan grafik diplot dengan rata-rata tiga pengamatan (Kumaran , 2007).

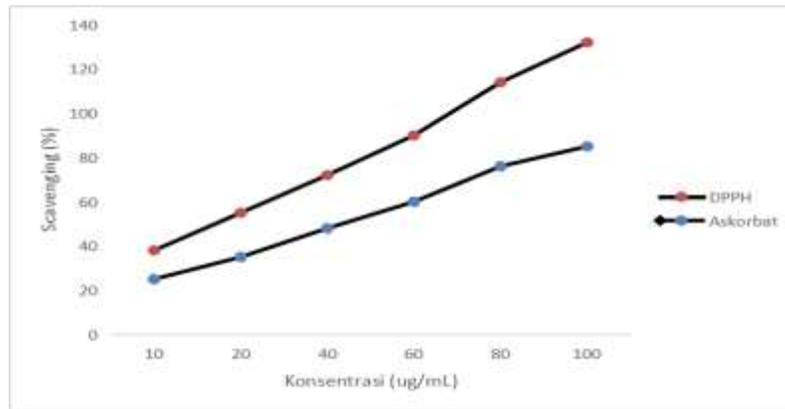
Pembilasan Hidrogen Peroksida. Suatu larutan hidrogen peroksida (20 mM) dibuat dalam saline fosfat (pH 7,4), konsentrasi yang berbeda dari ekstrak tumbuhan dan larutan asam askorbat standar yaitu 10, 20, 40, 60, 80 dan 100 $\mu\text{g/ml}$ dalam metanol (1 ml) di mana ditambahkan ke larutan hidrogen peroksida (2 ml). Absorbansi hidrogen peroksida pada 230 nm ditentukan setelah 10 menit terhadap larutan kosong yang mengandung dapar fosfat tanpa hidrogen peroksida. Untuk setiap konsentrasi, sampel kosong yang terpisah digunakan untuk pengurangan ground kembali. Persentase penghambatan dihitung dari $[(A0-A1)/A0] \times 100$, di mana A0 adalah absorbansi kontrol dan A1 adalah absorbansi ekstrak/ standar. The aktivitas antioksidan dari ekstrak dinyatakan sebagai IC50. Semua tes dilakukan dalam rangkap tiga dan grafik diplot dengan rata-rata tiga pengamatan.

Penentuan Daya Pengurangan Besi. Perbedaan konsentrasi ekstrak tumbuhan dan larutan asam askorbat standar yaitu. 10, 20, 40, 60, 80 dan 100 $\mu\text{g/ml}$ dalam 1ml metanol dicampurdengan buffer fosfat (2,5 ml, 0,2 M pH 6,6) dan kalium ferricyanide [$\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$] (2,5 ml, 1%). Campuran diinkubasi pada 50°C selama 20 menit. Sebagian (2,5 ml) asam trikoloroasetat (10%) ditambahkan ke dalam campuran, yang kemudian disentrifugasi pada 3.000 g (rpm) selama 10 menit pada suhu kamar. Lapisan atas larutan (2,5 ml) dicampur dengan air suling (2,5 ml) dan besi klorida (FeCl_3) (0,5 ml, 0,1%) dan absorbansi campuran reaksi menunjukkan peningkatan daya reduksi. Absorbansi diukur pada 700 nm. Semua tes dilakukan dalam rangkap tiga dan grafik diplot dengan rata-rata tiga pengamatan (Kumaran , 2007 dan Kumar, 2005).

Evaluasi Statistik: Hasil eksperimen rata-rata \pm SEM dari tiga pengukuran paralel. Analisis regresi linier digunakan untuk menghitung nilai IC50. Student's t-test digunakan untuk perbandingan antara dua cara untuk kemungkinan hubungan yang signifikan. Data dianggap signifikan secara statistik hanya ketika nilai $p < 0,05$.

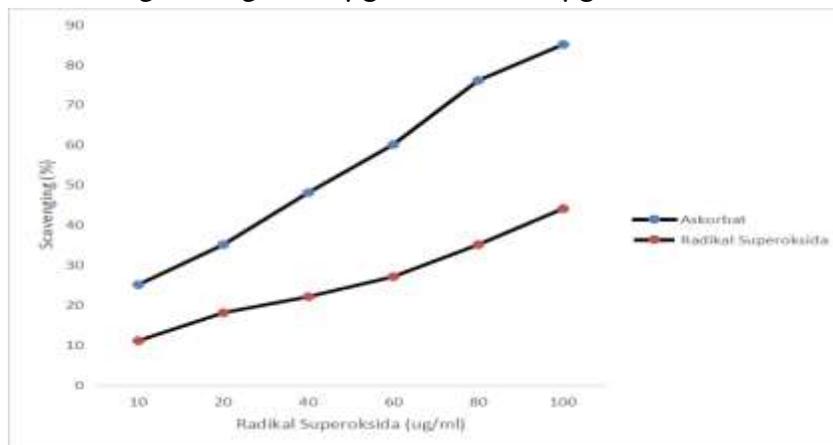
Total Kapasitas Antioksidan. Total kapasitas antioksidan dalam ekstrak daun Dialium diukur secara spektrofotometri adalah 17,66 mg/gm dibandingkan dengan asam askorbat.

Kegiatan Pembersihan Radikal DPPH. Gambar 1 mengilustrasikan penurunan yang signifikan ($p < 0,05$) dalam konsentrasi radikal DPPH karena kemampuan membersihkan ekstrak Dialium. Aktivitas ini tergantung pada dosis. Aktivitas pemulungan maksimum (57,10%) diamati pada konsentrasi 100 $\mu\text{g/ml}$ dan nilai IC50 ekstrak Dialium dan asam askorbat ditemukan masing-masing 85,28 $\mu\text{g/ml}$ dan 41,41 $\mu\text{g/ml}$.



Gambar 1. Aktivitas DPPH radical scavenging dari Ekstrak Etanol Dialium

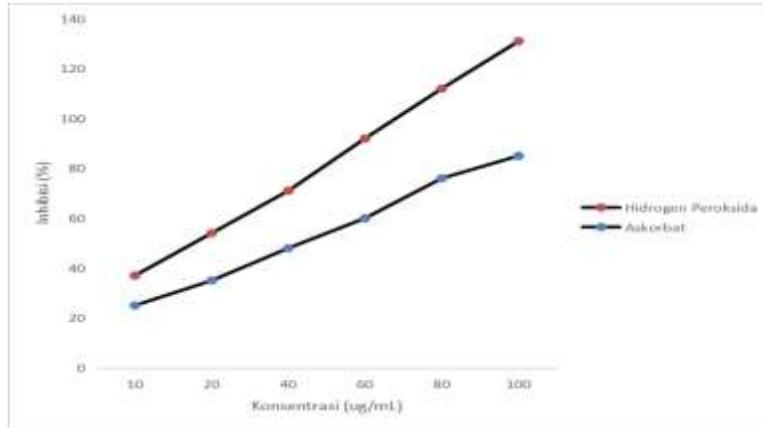
Kegiatan Pemulungan Radikal Super Oksida. Gambar. 2, mengungkapkan bahwa hubungan respon dosis ($p < 0,05$) yang signifikan ditemukan dalam aktivitas pemulungan radikal bebas superoksida dalam ekstrak Dialium. Aktivitas pemulungan maksimum (65,29%) diamati pada konsentrasi 100 $\mu\text{g/ml}$ dan nilai IC50 dari ekstrak Dialium dan asam askorbat ditemukan masing-masing 71,82 $\mu\text{g/ml}$ dan 35,99 $\mu\text{g/ml}$.



Gambar 2. Aktivitas Superoxide radical scavenging dari Ekstrak Etanol Dialium.

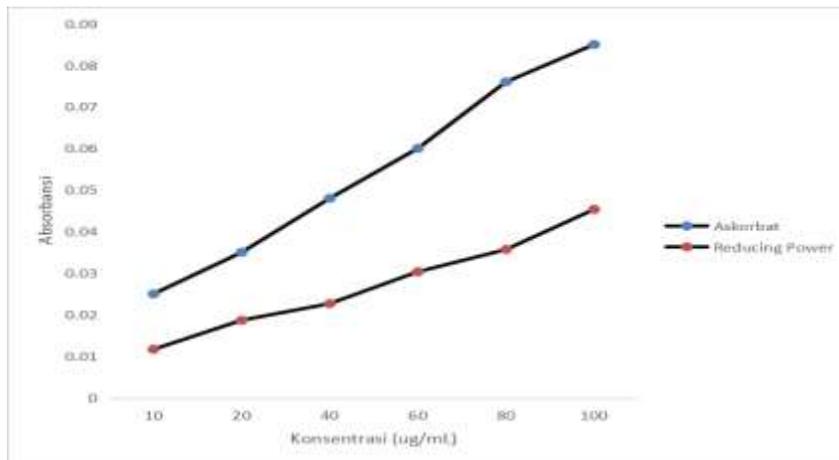
Aktivitas radikal Hidrogen Peroksida. Pada gambar. 3 mengungkapkan bahwa respon tergantung dosis ($p < 0,05$) yang signifikan ditemukan dalam aktivitas pemulungan hidrogen

peroksida dalam ekstrak Dialium. Aktivitas pemulungan maksimum (65,26%) diamati pada konsentrasi 100 µg/ml dan nilai IC50 dari ekstrak Dialium dan asam askorbat ditemukan masing-masing 72,55 µg/ml dan 39,84 µg/ml.



Gambar 3. Aktivitas hidrogen peroksida *radical scavenging* dari Ekstrak Etanol Dialium.

Penentuan Daya Pengurangan Besi. Gambar. 4 mengungkapkan bahwa mengurangi kekuatan ekstrak Dialium secara statistik signifikan ($p < 0,05$). Hasilnya jelas menunjukkan bahwa kekuatan reduksi dari ekstrak Dialium meningkat dengan meningkatnya konsentrasi dan sebanding dengan asam askorbat standar, maka ia memiliki aktivitas antioksidan.



Gambar 4. Mengurangi kekuatan ekstrak Dialium

Pembahasan

Total kapasitas antioksidan dalam ekstrak Dialium ditentukan oleh pembentukan kompleks phosphomolybdenum. Dialium ekstrak itu mampu mengurangi DPPH radikal stabil untuk kuning berwarna diphenylpicrylhydrazine, itu juga ditemukan untuk menjadi pemulung efisien sistem yang dihasilkan di riboflavin-NBT-light superoksida radikal in-vitro dan aktivitas mereka dalam sebanding dengan asam askorbat. Pengurangan fitokimia flavin

menghasilkan radikal oksigen yang mengurangi NBT, menghasilkan pembentukan formazan biru.

Ekstrak dialium menghambat pembentukan formazan biru dan juga membersihkan radikal hidroksil beracun yang dihasilkan oleh hidrogen peroksida. Kemampuan reduktif ditemukan dari transformasi Fe^{3+} - Fe^{2+} di hadapan para Dialium ekstrak.

D. KESIMPULAN

Ekstrak Dialium menunjukkan aktivitas antioksidan dengan menghambat DPPH, mengais-ngais yang super oksida serta hidrogen peroksida dan mengurangi kemampuan daya yang mungkin disebabkan adanya Flavonoid, Phenol, Tannis (senyawa fenolik) dan Triterpenoids ditemukan di skrining fitokimia pendahuluan.

Dengan demikian, aktivitas pembersihan radikal menunjukkan bahwa 55% v/v ekstrak alkohol *Dialium indum*. Kegiatan antioksidan *invitro*. Penelitian lebih lanjut diperlukan untuk mengevaluasi potensi antioksidan in-vivo dari ekstrak Dialium dalam berbagai model hewan.

E. UCAPAN TERIMA KASIH

Prodi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Ar-Raniry, LPPM UIN Ar-Raniry.

F. DAFTAR PUSTAKA

- Mondal, S. K., Saha, P., Mondal, N. B., & Mazumder, U. K. (2008). Free radical scavenging property of *Annona reticulata* leaves. *Oriental pharmacy and experimental medicine*, 8(3), 260-265.
- Lachman, L., Lieberman, H. A., & Kanig, J. L. (1986). The theory and practice of industry pharmacy. by *Lachman L., Lieberman HA, Kanig JL, Lea & Febiger, Philadelphia*, 760-803.
- Ebadi, M. (2006). *Pharmacodynamic basis of herbal medicine*. CRC press.
- Gupta, Y. K., Sharma, M., Chaudhary, G., & Katiyar, C. K. (2004). Hepatoprotective effect of New Livfit®, a polyherbal formulation, is mediated through its free radical scavenging activity. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 18(5), 362-364.
- Kumaran, A., & Karunakaran, R. J. (2007). In vitro antioxidant activities of methanol extracts of five *Phyllanthus* species from India. *LWT-Food Science and Technology*, 40(2), 344-352.
- Shirwaikar, A., Shirwaikar, A., Rajendran, K., & Punitha, I. S. R. (2006). In vitro antioxidant studies on the benzyl tetra isoquinoline alkaloid berberine. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 29(9), 1906-1910.
- Govindarajan, R., Rastogi, S., Vijayakumar, M., Shirwaikar, A., Rawat, A. K. S., Mehrotra, S., & Pushpangadan, P. (2003). Studies on the antioxidant activities of *Desmodium gangeticum*. *Biological and pharmaceutical Bulletin*, 26(10), 1424-1427.
- Osman, M., Mohd Hassan, N., Khatib, A., & Tolos, S. (2018). Antioxidant Activities of *Dialium indum* L. Fruit and Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS) of the Active Fractions. *Antioxidants*, 7(11), 154.

Rifkowitz, E. E., & Muttaqin, K. (2016). Penentuan Umur Simpan Sirup Kranji (*Dialium indum* L.) menggunakan Metode Accelerated Shelf-Life Testing (ASLT) Suhu. *TEKNOLOGI PANGAN: Media Informasi dan Komunikasi Ilmiah Teknologi Pertanian*, 7(1).

Akoji, J. N. (2019). Adsorption Performance of Packed Bed Column for the Removal of Lead (II) Using Velvet Tamarind (*Dialium indum*) Shells. *Asian Journal of Applied Chemistry Research*, 1-14.