

Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Akasia (*Acacia Auriculiformis*)

^{1*}Ni Kadek Yunita Sari dan ²I Made Wisnu Adhi Putra

^{1,2}Fakultas Ilmu Kesehatan Sains dan Teknologi, Universitas Dhyana Pura, Badung,
Bali, Indonesia.

*Email:kadekyunitasari@yahoo.com

ABSTRAK

Radikal bebas merupakan suatu senyawa asing yang masuk ke dalam tubuh dan merusak sistem imunitas tubuh. Jika jumlahnya berlebih, radikal bebas akan memicu efek patologis seperti arterosklerosis, kanker, diabetes dan penyakit degeneratif lainnya. Untuk meredam aktivitas radikal bebas diperlukan antioksidan. Antioksidan merupakan senyawa yang mampu menetralkan atau menstabilkan radikal bebas dengan cara melengkapi kekurangan elektron pada radikal bebas tersebut. Tanaman yang termasuk ke dalam suku fabaceae merupakan tumbuhan yang sebagian besar spesiesnya mengandung senyawa antioksidan. Aktivitas antioksidan pada tanaman *Acacia auriculiformis* selama ini belum pernah dilaporkan. Penelitian terhadap tanaman *Acacia auriculiformis* perlu dilakukan, mengingat pemanfaatannya masih sebatas memenuhi kebutuhan serat terutama untuk bahan baku industri *pulp* dan kertas serta sebagai tanaman pelindung. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui aktivitas antioksidan dan untuk mengetahui nilai IC_{50} (*inhibitory concentration*) dan nilai AAI (*Antioxidant Activity Index*) dari ekstrak daun muda dan tua *Acacia auriculiformis*. Sampel kering daun diekstraksi secara maserasi menggunakan pelarut etanol. Ekstrak tersebut selanjutnya diuji aktivitas antiradikal bebas berdasarkan kemampuan pengikatan radikal bebas DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil). Hasil penelitian menunjukkan ekstrak daun muda dan tua *Acacia auriculiformis* memiliki aktivitas sebagai antioksidan, nilai IC_{50} dan AAI ekstrak daun muda dan daun tua *Acacia auriculiformis* berturut-turut adalah 464,2361 ppm (AAI=0,0861), 433,6332 ppm (AAI=0,0922) sedangkan vitamin C sebagai pembanding memiliki nilai IC_{50} 159,6216 ppm (AAI=0,2505).

Kata kunci: Antioksidan, radikal bebas, akasia, IC_{50} , AAI

ABSTRACT

Free radicals are foreign compounds that enter the body and damage the body's immune system. If the amount is excessive, free radicals will trigger the effects of pathologists such as arterosclerosis, cancer, diabetes and other degenerative diseases. To reduce free radical activity required antioxidants. Antioxidants are compounds capable of neutralizing or stabilizing free radicals by supplementing electron deficiencies in these free radicals. The plant of fabaceae is a plant that most of the species contain antioxidant compounds. The antioxidant activity of *Acacia auriculiformis* plants has not been reported. Research on *Acacia auriculiformis* plant needs to be done, considering the utilization is still limited to meet the needs of fiber, especially for the raw materials of the pulp and paper industry and as a protective plant. The purpose of this research is to know the antioxidant activity and to know the value of IC_{50} (*inhibitory concentration*) and the value of AAI (*Antioxidant Activity Index*) from young and old leaf extract of *Acacia auriculiformis*. Dry samples of leaves are extracted by maceration using ethanol solvent. The extract was then tested for free antiradical activity based on DPPH free radical binding ability (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl). The results showed that *Acacia auriculiformis* leaf extract had activity as antioxidant, IC_{50} and AAI value of young leaf extract and old leaves of *Acacia auriculiformis* were 464,2361 ppm (AAI = 0,0861), 433,6332 ppm (AAI = 0,0922) while vitamin C as comparison have value of IC_{50} 159,6216 ppm (AAI = 0,2505).

Keywords: Antioxidant, free radicals, Acacia, IC_{50} , AAI

PENDAHULUAN

Radikal bebas merupakan suatu senyawa asing yang masuk ke dalam tubuh dan merusak sistem imunitas tubuh. Radikal bebas dapat timbul akibat berbagai proses kimia yang kompleks dalam tubuh seperti polutan lingkungan, radiasi zat-zat kimia, racun dan makanan cepat saji (Selawa dkk., 2013). Jika jumlahnya berlebih, radikal bebas akan memicu efek patologis seperti arterosklerosis, kanker, diabetes dan penyakit degeneratif lainnya (Chen dkk., 1996). Untuk meredam aktivitas radikal bebas diperlukan antioksidan. Antioksidan merupakan senyawa yang mampu menetralkan atau menstabilkan radikal bebas dengan cara melengkapi kekurangan elektron pada radikal bebas tersebut. Substansi ini mampu mencegah terjadinya reaksi berantai dari pembentukan radikal bebas yang dapat menimbulkan stres oksidatif (ketidakseimbangan antara prooksidan dan antioksidan) (Kikuzaki dan Nobuji, 1993).

Peranan antioksidan sangat penting dalam menetralkan dan menghancurkan radikal bebas yang dapat menyebabkan kerusakan sel dan juga merusak biomolekul, seperti DNA, protein, dan lipoprotein di dalam tubuh yang akhirnya dapat memicu terjadinya penyakit degeneratif, seperti kanker, jantung, artritis, katarak, diabetes dan hati (Silalahi, 2002). Untuk menghindari hal tersebut, dibutuhkan antioksidan tambahan dari luar atau antioksidan eksogen.

Keanekaragaman hayati Indonesia sangat berpotensi dalam penemuan senyawa baru sebagai antioksidan. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa beberapa tumbuhan terbukti bermanfaat melindungi tubuh manusia dari bahaya radikal bebas, karena adanya antioksidan yang terdapat dalam tumbuhan tersebut. Secara alami, tumbuhan yang mengandung antioksidan tersebar pada berbagai bagian tumbuhan seperti akar, batang, kulit, ranting, daun, buah, bunga dan biji. Tanaman Fabaceae merupakan tumbuhan yang sebagian besar spesiesnya mengandung senyawa flavonoid yang telah dilaporkan efektif menghambat peroksidasi asam linoleat dan mencegah pembentukan anion superoksida antara lain quersetin, isorhamnetin dan rhamnazin. Senyawa ini potensial melawan peroksidasi mikrosomal lipid yang diinduksi oleh Fe(III)ADP/NADPH

(Tringali, 2001). Salah satu jenis tanaman fabaceae adalah akasia (*Acacia auriculiformis*).

Efek antiradikal bebas dari tanaman *Acacia auriculiformis* selama ini belum pernah dilaporkan sebelumnya. Walaupun spesies lain dari *Acacia* seperti *A. confuse* telah dilaporkan kemampuannya dalam menghambat replikasi virus hepatitis kronis dengan EC₅₀ 5±0.3 µg/ml (Lee *et al.*, 2010). Oleh karena itu, penelitian terhadap tanaman *Acacia auriculiformis* perlu dilakukan, mengingat pemanfaatannya masih sebatas memenuhi kebutuhan serat terutama untuk bahan baku industri *pulp* dan kertas serta sebagai tanaman pelindung.

Tujuan penelitian ini untuk mengetahui aktivitas antioksidan dan untuk mengetahui nilai IC₅₀ (*inhibitory concentration*) dan nilai AAI (*Antioxidant Activity Index*) dari ekstrak daun muda dan tua *Acacia auriculiformis*.

MATERI DAN METODE

Waktu dan Tempat Penelitian

Sampel daun akasia diambil di kebun di Jalan Darmawangsa, Desa Kutuh Kabupaten Badung. Pembuatan simplisia serbuk daun akasia, dilakukan di Laboratorium Sains Dasar Universitas Dhyana Pura. Pembuatan larutan DPPH, ekstraksi dan pengukuran daya antiradikal bebas dilakukan di UPT Laboratorium Analitik Universitas Udayana. Penelitian akan dilakukan selama kurang lebih 3 bulan.

Metode Penelitian

a. Penyediaan bahan uji

Sampel daun akasia diambil di kebun yang terletak di jalan Darmawangsa, Desa Kutuh, Kabupaten Badung, Bali. Daun akasia kemudian dicuci bersih dengan air mengalir, selanjutnya ditiriskan dan dikeringanginkan di atas nampan selama 2 minggu. Daun yang sudah kering (simplisia) disortasi dari kotoran-kotoran yang masih tersisa dikumpulkan dalam baskom. Simplisia dihaluskan menggunakan blender sehingga diperoleh serbuk simplisia. Serbuk simplisia kemudian dimasukkan ke dalam kantong plastik.

b. Ekstraksi Sampel

Sampel ditimbang sebanyak 500 g kemudian dimasukkan dalam bejana maserasi. Cairan pengekstraksi berupa etanol dimasukkan ke dalam bejana hingga 1-2 ml di atas sampel, bejana maserasi disimpan selama 3 hari. Campuran kemudian disaring dan ampasnya dimaserasi kembali dengan etanol. Proses penyarian dilakukan sebanyak 3 kali. Hasil maserasi dikumpulkan kemudian diuapkan dengan menggunakan alat rotavapor hingga diperoleh ekstrak etanol lalu ampasnya diangin-anginkan sampai kering. Sampel yang telah kering selanjutnya dimaserasi lagi dengan etanol 96% selama 24 jam. Hasil maserasi lalu diuapkan dengan menggunakan alat rotavapor, sehingga diperoleh ekstrak

kering yang digunakan sebagai sampel uji aktivitas.

c. Uji aktivitas pengikatan radikal bebas DPPH

Larutan uji ekstrak etanol daun akasia dibuat konsentrasi 20 mg/ml dalam pelarut campuran kloroform - metanol (1:1). Pengujian dilakukan dengan cara penambahan 100 µl larutan sampel dengan 1,0 ml DPPH 0,4 mM dan dicukupkan volumenya sampai 5,0 ml dengan etanol. Campuran selanjutnya dihomogenkan dan diukur serapannya setelah 30 menit pada spektrofotometer dengan panjang gelombang 517 nm.

Penentuan persen inhibisi

Besarnya persentase pengikatan radikal bebas dihitung dengan rumus DPPH:

$$\% \text{ inhibisi radikal DPPH} = \frac{(\text{Absorban kontrol} - \text{Absorban bahan uji})}{\text{Absorban kontrol}} \times 100$$

(Ghosal dan Mandal, 2012).

Penentuan Nilai IC₅₀ (Inhibitory concentration)

Konsentrasi sampel dan persen inhibisinya diplot masing-masing pada sumbu x dan y pada persamaan regresi linear. Persamaan tersebut digunakan untuk menentukan nilai IC₅₀ dari masing-masing sampel dinyatakan dengan nilai y sebesar 50 dan nilai x yang akan diperoleh sebagai nilai IC₅₀ (Nurjanah dkk., 2011).

Penentuan nilai AAI (Antioxidant Activity Index)

Nilai AAI diperoleh dari konsentrasi DPPH yang digunakan dalam uji (ppm) dibagi dengan nilai IC₅₀ yang diperoleh (ppm). Nilai AAI < 0,5 adalah antioksidan lemah, AAI > 0,5-1 adalah antioksidan sedang, AAI > 1-2 adalah antioksidan kuat dan AAI > 2 adalah antioksidan sangat kuat (Vasic *et al.*, 2012).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Aktivitas antioksidan pada daun akasia ditunjukkan dengan adanya penurunan nilai absorbansi DPPH pada panjang gelombang 517 nm. Penurunan absorbansi DPPH

ditunjukkan dengan terjadinya degradasi warna DPPH ungu menjadi warna kuning. Menurut Syukur dkk. (2011), senyawa antioksidan akan bereaksi dengan radikal DPPH melalui donasi proton yang menyebabkan perubahan warna DPPH dari ungu menjadi kuning (Gambar 1). Spesies *Acacia auriculiformis* merupakan famili dari fabaceae, menurut Tringali (2001) jenis tanaman yang tergolong famili Fabaceae sebagian besar mengandung antioksidan.



Gambar 1. Perubahan warna DPPH ekstrak daun akasia

Hasil skrining aktivitas antiradikal bebas menunjukkan ekstrak etanol daun akasia tua memiliki aktivitas yang lebih baik dibandingkan daun muda. Persen pengikatan radikal bebas daun akasia tua sebesar 88%

pada konsentrasi 0,75 mg/ml dengan nilai IC_{50} yang lebih rendah yaitu 0,43 mg/ml. Sedangkan daun akasia muda memiliki persen persen pengikatan radikal bebas sebesar 59% pada konsentrasi 0,54 mg/ml dengan nilai IC_{50} yang lebih tinggi yaitu 0,46 mg/ml (Tabel 1). Hal tersebut menunjukkan bahwa daun tua memiliki aktivitas antioksidan yang lebih besar dibandingkan daun muda. Nilai IC_{50} merupakan bilangan yang menunjukkan konsentrasi ekstrak (ppm) yang mampu menghambat proses oksidasi sebesar 50%. Menurut Zuhra *et al.* (2008), semakin kecil nilai IC_{50} semakin tinggi aktivitas antioksidan suatu bahan. Perbedaan aktivitas antioksidan pada umur daun yang berbeda menurut Kuntorini (2013) disebabkan adanya perbedaan konsentrasi dari metabolit sekunder yang terkandung dalam daun tersebut. Semakin banyak metabolit sekunder yang dikandung maka akan semakin kuat aktivitas antioksidannya. Hal ini menunjukkan bahwa umur daun berpengaruh terhadap metabolit sekunder yang mempunyai senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan.

Berdasarkan hasil nilai IC_{50} menunjukkan bahwa vitamin C memiliki nilai IC_{50} yang lebih kecil yaitu 159,6216 ppm

dibandingkan dengan daun muda dan daun tua akasia yang lebih besar yaitu berturut-turut 464,2361 ppm dan 433,6332 ppm (Tabel 1). Hal ini menunjukkan bahwa vitamin C memiliki aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan daun akasia. Vitamin C memiliki gugus hidroksi bebas yang bertindak sebagai penangkap radikal bebas dan jika memiliki gugus polihidroksi akan meningkatkan aktivitas antioksidan. Selain itu vitamin C dalam penelitian ini berfungsi sebagai kontrol positif yang berperan sebagai pembanding. Vitamin C digunakan sebagai pembanding karena berfungsi sebagai antioksidan sekunder yang menangkal radikal radikal bebas ekstraseluler (Praptiwi dan Harapini, 2006) .

Daun muda akasia memiliki nilai AAI sebesar 0,0861, daun tua 0,0922 dan vitamin C 0,2505. Hal ini menunjukkan daun muda dan daun tua akasia serta vitamin C memiliki sifat antioksidan yang lemah karena nilai AAI < 0,5. Menurut Vasic *et al.* (2012) jika nilai AAI < 0,5 tergolong antioksidan lemah, AAI > 0,5-1 tergolong antioksidan sedang, AAI > 1-2 tergolong antioksidan kuat dan AAI > 2 tergolong antioksidan sangat kuat.

Tabel 1. Hasil Pesentase Pengikatan DPPH, Nilai IC_{50} dan AAI Ekstrak Daun Akasia

No	Nama Sampel	Konsentrasi (mg/ml)	% Pengikatan DPPH	IC_{50} (ppm)	AAI
1	Daun Muda	0	0,000	464,2361	0,0861
		5	14,984		
		10	28,374		
		15	43,571		
		20	59,192		
2	Daun Tua	0	0,000	433,6332	0,0922
		5	20,404		
		10	45,696		
		15	61,211		
		20	88,098		
3	Vitamin C	0	0,956	159,6216	0,2505
		2,5	4,995		
		5	8,395		
		15	22,848		
		20	26,886		

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian tersebut dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun *Acacia auriculiformis* memiliki aktivitas sebagai

antioksidan dan nilai IC_{50} dan AAI ekstrak daun muda dan daun tua *Acacia auriculiformis* berturut-turut adalah 464,2361 ppm (AAI=0,0861), 433,6332 ppm

(AAI=0,0922) sedangkan vitamin C sebagai pembanding memiliki nilai IC₅₀ 159,6216 ppm (AAI=0,2505).

SARAN

Saran yang dapat diberikan berdasarkan penelitian ini adalah sebaiknya dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai uji aktivitas daun akasia secara kualitatif dengan menggunakan metode KLT serta perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang uji aktivitas antioksi dan pada bagian tanaman lain seperti buah dan biji akasia.

REFERENSI

- Chen HM, Koji M, Fumio Y, Kiyoshi N. (1996). Antioxidant activity of designed peptides based on the antioxidative peptide isolated from digests of a soybean protein. *J. Agric. Food Chem* 44: 2619-23
- Kikuzaki, H. & Nobuji, N. (1993), Antioxidant effect of some ginger constituents, *Food Science*, 58, 1407-1410
- Kuntorini, E. M. (2013). Kemampuan antioksidan Bulbus Bawang Dayak (*Eleutherine americana* Merr) pada Umur Berbeda. Available at: <http://jurnal.fmipa.unila.ac.id/index.php/semirata/article/download/686/506>. Opened: 20-9-2017
- Nurjanah, A. Abdulla, A. Apriand. (2011). Aktivitas Antioksidan dan Komponen Bioaktif pada Keong Ipong-Ipong (*Fasciolaria salmo*). *J. Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. XIV(1):22-29.
- Lee, J.C., Chen, W.C., Wu, S.F., Tseng, C.K., Chiou, C.Y., Chang, F.R., Hsu, S.H., Wu, Y.C. (2010). Anti-hepatitis C virus activity of *Acacia confusa* extract via suppressing cyclooxygenase-2, *Antiviral Res.* Nov 12.
- Praptiwi, D.P., Harapini, M. (2006). Nilai Peroksida dan Aktivitas Anti Radikal Bebas Diphenyl Picric Hydrazil Hydrate (DPPH) Ekstrak Metanol Knema laurina. *Majalah Farmasi Indonesia*. Online. 11 Juli 2012.
- Selawa, W., Max R. John R., Gayatri C. (2013). Kandungan Flavonoid dan Kapasitas Antioksidan Total Ekstrak Etanol Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis.). *Jurnal Ilmiah Farmasi – UNSRAT Vol. 2 No. 01*
- Silalahi J. (2002). Senyawa polifenol sebagai komponen aktif yang berkhasiat dalam teh. *Majalah Kedokteran Indonesia*. 52 (10): 361-4
- Syukur, R., Alam, G., Mufidah, Rahim, A., Tayeb, R. (2011). Aktivitas Antiradikal Bebas Beberapa Ekstrak Tanaman Famili Fabaceae. *JST Kesehatan*. Vol 1.No.1:61-67
- Tringali C. (2001). *Bioactive Compounds from Natural Sources*. Taylor and Francis. Universita di Catania. Italy
- Vasic, S.M., Stefanovic, O.D., Licina, B.Z., Radojevic, I.D., Comic, L.R. (2012). Biological Activities of Extracts from Cultivated *Granadilla Passiflora alata*. *EXCLI Journal*. Vol 11 ISSN 1611-2156.
- Zuhra, C.F., Tarigan, J., Sitohang, H. (2008). Aktivitas Antioksidan Senyawa Flavonoid dari Daun Katuk (*Sauropus androgynus* (L) Merr.). *Jurnal Biologi Sumatera*. Vol.3 ISSN 1907-5537.