

AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL DAUN ASAM JAWA (*Tamarindus indica* L.) DENGAN METODE DPPH

Buanasari^{1*}, Warlan Sugiyo, Arini Chyntia Apriyanti
Akademi Farmasi Nusaputera Semarang, Dept. Kimia Farmasi
Email : buanasari.only@gmail.com ; 08157793007

ABSTRAK

Asam jawa banyak dimanfaatkan untuk kesehatan. Manfaatnya sudah banyak digunakan masyarakat asia. Penelitian sebelumnya banyak mengkaji buah dan bijinya. Penelitian ini mengkaji pengaruh konsentrasi pelarut dan waktu ekstraksi terhadap hasil ekstraksi dan aktivitas antioksidan ekstrak. Metode yang digunakan remaserasi dengan variasi konsentrasi pelarut (30, 50, 70%v) dan waktu (3, 5 dan 7 hari). Uji aktivitas antioksidan ekstrak menggunakan metode *DPPH-Scavenging activity*, dengan menghitung persen penghambatan pada absorbansi 528nm. Hasil penelitian menggunakan IR spektroskopi menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun asam jawa mempunyai kandungan fenolik, flavonoid, saponin, alkaloid dan ekstrak yang memiliki aktivitas antioksidan paling besar pada konsentrasi etanol 30%v (DPPH-SA= 61,50±1,56 %). Pengujian aktivitas antioksidan berdasarkan lamanya waktu perendaman tidak mempengaruhi aktivitas antioksidan ekstrak (DPPH-SA= 57,60±1,27 %). Hasil penelitian menunjukkan adanya gugus antioksidan yaitu fenol pada spektrofotometer IR, sehingga ekstrak daun asam jawa memiliki potensi sebagai sumber antioksidan alami yang bermanfaat.

Kata kunci : Antioksidan, Asam Jawa, DPPH, Fenolik, Tamarind.

PENDAHULUAN

Daun asam jawa (*Tamarindus indica* L.) merupakan salah satu tanaman dari familia *Leguminosae* yang memiliki sumber antioksidan alami yang dapat digunakan untuk pengobatan berbagai jenis penyakit. Pohon asam ditemukan terutama di India, Afrika, Pakistan, Bangladesh, Nigeria dan sebagian besar negara tropis seperti Indonesia. Berdasarkan pada data farmakologinya, daun asam jawa diketahui dapat berkhasiat untuk nyeri perut, diare dan disentri, infeksi cacing, penyembuhan luka, malaria, demam, sembelit, inflamasi, dan peradangan (Kuru, 2014).

Berdasarkan penelitian yang sebelumnya dilakukan oleh (Assagaf, 2015) menunjukkan bahwa daun asam jawa dapat menurunkan kadar kolesterol didalam darah dengan dosis 0,0134 gram/200 gram BB.

Buah dan biji tanaman asam jawa menunjukkan efek anti-bakteri, anti-inflamasi dan anti-diabetogenic (Maiti et al., 2004; Paula et al., 2009). Sebagian besar penelitian tentang asam jawa terkonsentrasi pada buah dan biji tanaman, dan sebagian besar diekstraksi menggunakan pelarut polar, hal tersebut karena pengalaman masyarakat dalam

memanfaatkan buah dan biji asam jawa (Luengthanaphol et al., 2004; Razali et al., 2010; Siddhuraju, 2007; Soong and Barlow, 2004; Sudjaroen et al., 2005).

Banyaknya penelitian tentang potensi dari asam jawa, maka pada penelitian ini peneliti mengkaji potensi bagian dari daun asam jawa sebagai sumber antioksidan alami dengan pelarut etanol.

METODE PENELITIAN

Bahan

Bahan utama penelitian ini adalah daun asam jawa (*Tamarandus indica* L.) yang didapat dari daerah Semarang, Jawa Tengah. Bahan lain yang digunakan DPPH (Sigma Aldrich, kemurnian 90%), metanol (Merck, kemurnian 96%), etanol (Merck, kemurnian 96%), air suling, pereaksi Mayer, pereaksi Wagner, MgSO₄, HCl pekat, dan FeCl₃,

Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah timbangan elektrik (Satorius), spektrofotometri Uv-Vis Hitachu U-218, Fourier Transform Infared 8400 SHIMADZU, peralatan gelas (pyrex), kertas saring, mesh 100 dan aluminium foil.

Metode

Persiapan bahan baku

Menyeragamkan ukuran bahan dan kadar air, yaitu 100 mesh dengan kadar air kurang dari 10%b/b. Daun asam jawa (*Tamarandus indica* L.) dibersihkan dan diangin-anginkan tanpa kena sinar matahari selama 5-10 hari. Daun kering dihaluskan dengan ukuran 100 mesh dilanjutkan dengan pengeringan sampai didapatkan kadar air kurang dari 10%b/b.

Ekstraksi

Pelarut digunakan etanol karena aman untuk makanan dan pelarut yang baik dibandingkan pelarut metanol, nHexane dan aceton dalam mengekstrak beberapa tanaman dan cukup baik dalam mengekstrak oleoresin dan aldehyd tanaman kayu manis (Jos et al., 2011). Simplisia daun yang sudah dikeringkan dan dihaluskan timbang 250 gram, kemudian dimasukkan dalam bejana tertutup, lalu ditambahkan 1000 mL etanol dengan perbedaan konsentrasi yaitu etanol 30%, 50%, 70%, perendaman dilakukan selama 3 hari kemudian disaring. Filtrat pertama yang diperoleh dikumpulkan, untuk penyarian berikutnya ditambahkan pelarut yang sama selama 5 hari hingga 7 hari, sari daun asam jawa bening. Kemudian semua filtrat diuapkan hingga menjadi ekstraksi kental. Kemudian ekstrak kental dilakukan pengujian kualitatif dan kuantitatif dengan metode DPPH.

Uji Kualitatif Fitokimia

Pengujian ini dilakukan pada ekstrak etanol daun asam jawa yang meliputi identifikasi alkaloid, flavonoid, saponin dan fenolik. Identifikasi gugus juga dilakukan dengan spektrofotometer FTIR.

1,1 Diphenyl 2-Picryl Hydrazyl (DPPH)-Scavenging Activity Test.

Pengujian DPPH scavenging activity dilakukan dengan metode (Banerjee et al., 2005). Dimasukkan $\pm 0,5$ gram sampel ke dalam tabung sentrifus yang berisi pelarut metanol sebanyak 10 mL, yang digunakan untuk melarutkan senyawa antioksidan untuk diuji secara spektrofotometer. Campuran tersebut dikocok selama 10 menit pada 150 rpm, lalu didiamkan selama 12 jam dalam keadaan gelap,

selanjutnya disentrifus 3000 rpm selama 10 menit, supernatan yang diperoleh dipindahkan ke dalam tabung yang baru. Residu diekstrak lagi dengan menambahkan 5 mL pelarut. Ekstrak diencerkan 2,5X nya menggunakan pelarut. Kedua ekstrak dicampurkan dan disimpan dalam keadaan gelap pada suhu 4°C. Diambil ekstrak dari daun asam jawa sebanyak 0,2 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 3,8 mL larutan DPPH 0,16 mM. Campuran dikocok selama 1 menit dengan vortex, kemudian didiamkan pada suhu kamar dan gelap selama 30 menit. Absorbansi diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 517 nm. Aktivitas ekstrak terhadap DPPH diekspresikan sebagai :

$$\text{DPPH radical scavenging activity (\%)} = \frac{A_{\text{Blank}} - A_{\text{sample}}}{A_{\text{Blank}}} \times 100\%$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini menggunakan metode remaserasi untuk mengekstrak daun asam jawa. Metode ini biasanya dilakukan untuk mengekstrak sampel tumbuhan. Sampel yang digunakan adalah daun asam jawa yang sudah dikeringkan dengan kadar air $9,55 \pm 0,54$ % dan ukuran 100 mesh sebelum diekstraksi.

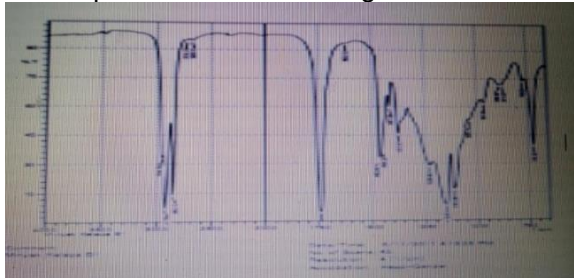
Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Asam Jawa.

skrining fitokimia adalah untuk mengidentifikasi senyawa bioaktif atau senyawa yang mempunyai aktivitas yang menguntungkan, yaitu sebagai antioksidan. Pengujiannya menggunakan metode kualitatif yang dilakukan (Marliana, et al. 2005). Hasil skrining disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Pengujian Kualitatif Skrining Fitokimia

No	Pengujian	Hasil
1.	Alkaloid	
	- Wagner	+
	- Mayer	-
2.	Flavonoid	+
3.	Saponin	+
4.	Fenolik	+

Hasil penelitian di duga bahwa ekstrak etanol daun asam jawa mengandung alkaloid, flavonoid, saponin, dan fenolik. Pengujian dilakukan juga menggunakan FTIR spektrofotometri sebagai berikut:



Gambar 1. Hasil Spektrum IR Ekstrak Asam Jawa

Penentuan gugus fungsional isolat aktif menggunakan *FT-IR Spektrum IR* dapat memberikan informasi adanya gugus-gugus fungsional tertentu dan juga tipe ikatan antar atom dalam struktur molekul. Serapan kuat dan tajam pada $3620,73\text{ cm}^{-1}$ mengindikasikan adanya O-H jenis phenol. Pita $3100,15\text{ cm}^{-1}$ C-H dan pita $2012,36\text{ cm}^{-1}$ C=C adanya *Aromatic Ring*. Pita tajam pada $1724,63\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan gugus aryl eter. Pita $971,10\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan adanya alkenes trans -RCH=CHR . Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa struktur dari isolat aktif kemungkinan mengandung gugus -OH , -CH_2 , -C=C , dan -RCH=CHR . Pada penelitian (Akbar, 2010) didapatkan bahwa serapan gelombang $2947,22$ dan $2832,89$ menunjukkan C-H didalam gugus C-H alifatik, adanya gugus karbonil pada C=C aromatic ring muncul pada panjang gelombang $1654,00$, kemudian O-H teridentifikasi pada penelitian ini.

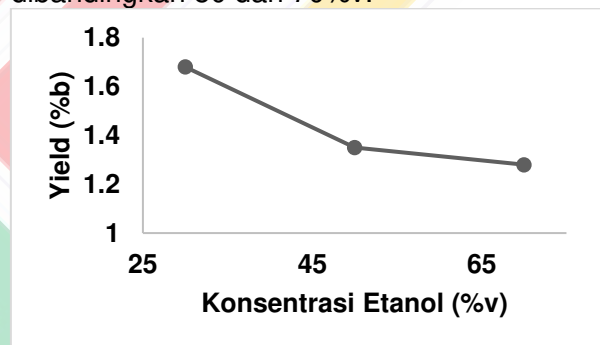
Pengaruh Konsentrasi Etanol terhadap Yield Ekstrak.

Pelarut yang sering digunakan untuk ekstraksi di antaranya metanol, etanol dan air. Dalam penelitian ini digunakan etanol karena lebih aman untuk obat dan makanan dibandingkan metanol. Air juga merupakan pelarut yang aman dan murah namun efektivitasnya dalam mengekstrak masih lebih rendah dibandingkan dengan campuran air etanol.

Pengaruh konsentrasi pelarut terhadap hasil randemen dilakukan dengan variasi konsentrasi 30,50 dan 70%v etanol dengan

waktu maserasi 3 hari. Hasil randemen yang didapatkan disajikan pada Gambar 2. Rendemen atau yield terbesar dihasilkan oleh ekstrak dengan pelarut etanol 30%v dengan hasil rendemen (1,68%) dan dengan kenaikan konsentrasi randemen menurun.

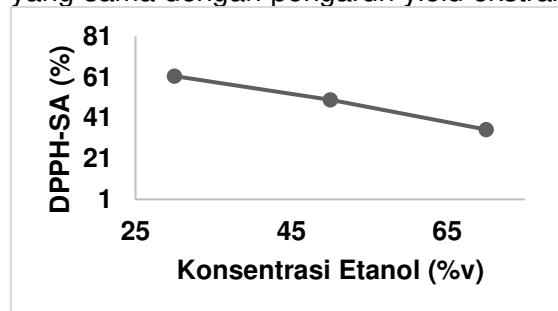
Zou et al., (2014) menggunakan campuran etanol air untuk mengambil senyawa aktif pada daun mangga dan hasil terbaiknya dengan etanol 40%. Yield tertinggi ekstrak daun petai dengan ekstraksi metode lain juga didapatkan konsentrasi etanol sekitar 40% yang memberikan yield terbesar dari range konsentrasi 0-100% (Buanasari et al., 2018). Hasil ekstraksi variabel ini juga menemukan campuran etanol dan air sangat baik untuk mengambil kandungan zat aktif dalam daun asam jawa, dan etanol 30%v memberikan yield ekstrak terbesar dibandingkan 50 dan 70%v.



Gambar 2. Profil Randemen dengan Variasi Konsentrasi Pelarut.

Pengaruh Konsentrasi Etanol terhadap DPPH-SA.

Hasil ekstrak pada variabel ini juga diuji DPPH-SA nya dan disajikan pada Gambar 2. Profil grafik menunjukkan karakteristik yang sama dengan pengaruh yield ekstrak.



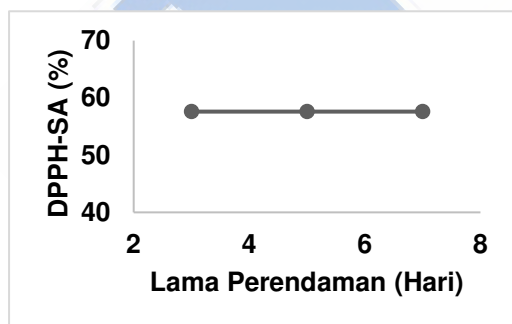
Gambar 3. Profil DPPH-SA dengan Variasi Konsentrasi Pelarut.

DPPH-SA terbesar di dapatkan pada ekstrak dengan pelarut 30%v yaitu sebesar $61,50 \pm 1,56$ % dan menurun dengan bertambahnya konsentrasi etanol diatas 30%. Rentang variabel dalam penelitian ini cukup jauh sehingga perbedaan nilai DPPH-SA sangat terlihat. Buanasari et al., (2018) dalam mengekstrak daun petai juga mendapatkan hasil yang similar yaitu dengan semakin besar yield yang dihasilkan memungkinkan kandungan zat aktif yang diperoleh juga besar sehingga nilai aktivitas antioksidannya juga besar.

Pengaruh Lama perendaman terhadap DPPH-SA.

Lama perendaman yang dilakukan selama 3,5,dan 7 hari tidak mempengaruhi ataupun menambah aktivitas antioksidan ekstrak. Hasil pengaruh lama perendaman terhadap DPPH-SA ditunjukkan pada Gambar 4.

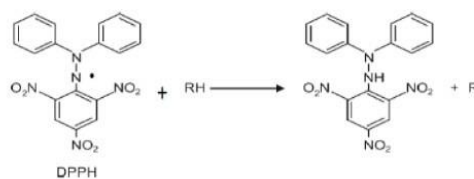
Proses penangkapan radikal bebas ini melalui mekanisme pengambilan hidrogen dari senyawa antioksidan oleh radikal bebas, sehingga radikal bebas menangkap satu elektron dari antioksidan radikal bebas sintetik yang digunakan yaitu DPPH. Senyawa DPPH bereaksi dengan senyawa antioksidan melalui pengambilan atom hidrogen dari senyawa antioksidan untuk mendapatkan pasangan elektron (Bustillos et al., 2014).



Gambar 4. Profil DPPH-SA dengan Variasi Lama Perendaman.

Senyawa yang bereaksi sebagai penangkal radikal bebas akan mereduksi DPPH yang dapat diamati dengan adanya perubahan warna DPPH dari ungu menjadi kuning ketika elektron ganjil dari radikal DPPH telah berpasangan dengan hidrogen dari senyawa penangkal radikal

bebas akan membentuk DPPH-H tereduksi (Molyneux, 2004).



Gambar 5. Reaksi Kimia Penghambatan Radikal DPPH

Perbedaan lama perendaman memberikan aktivitas antioksidan sama disetiap lamanya yaitu $56,7 \pm 1,27$ %.

KESIMPULAN

Ekstrak etanol daun asam jawa mempunyai kandungan fenolik, flavonoid, saponin, alkaloid serta memiliki potensi sebagai sumber antioksidan alami yang bermanfaat. Pengaruh perbedaan konsentrasi pelarut terhadap aktivitas antioksidan ekstrak didapatkan konsentrasi etanol 30%v memiliki aktivitas terbesar (DPPH-SA= $61,50 \pm 1,56$ %). Pengujian aktivitas antioksidan berdasarkan lamanya waktu perendaman tidak mempengaruhi aktivitas antioksidan dengan nilai DPPH-SA= $57,60 \pm 1,27$ % di semua lama perendaman.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih disampaikan kepada Lab Fitokimia Akfar Nusaputera dan UPT UNDIP Semarang dan Lab. Pangan Unimus Semarang untuk sarana yang diberikan dalam penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Akbar, H.R., 2010. Isolasi dan Identifikasi Golongan Flavonoid daun Dandang Gendis (*Clinacanthus nutans*) Berpotensi sebagai Antioksidan.
- Assagaf, K.K., 2015. Uji Efektifitas Ekstrak Etanol Daun Asam Jawa (*Tamarindus indica* Linn.) Terhadap Penurunan Kadar Kolesterol Darah Tikus Putih Jantan Galur Wistar (*Rattus norvegicus*). *Pharmakon* 4, 58–63.
- Banerjee, A., Dasgupta, N., De, B., 2005. In vitro study of antioxidant activity of *Syzygium cumini* fruit. *Food Chem.* 90, 727–733.

- <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.04.033>
- Buanasari, Palupi, P.D., Serang, Y., Pramudono, B., Sumardiono, S., 2018. Development of ultrasonic-assisted extraction of antioxidant compounds from Petai (*Parkia speciosa* Hassk.) leaves. IOP Conf. Ser. Mater. Sci. Eng. 349, 012009. <https://doi.org/10.1088/1757-899X/349/1/012009>
- Bustillos, R.G., Dulay, R.M.R., Bauto, J.J., Pascual, F., 2014. Mycochemical Profile of *Mycelia* and Fruiting Body of *Panaeolus cyanescens* and its Optimal Submerged Culture Conditions for Antioxidant Properties 7.
- Jos, B., Pramudono, B., Aprianto, A., 2011. EKSTRAKSI OLEORESIN DARI KAYU MANIS BERBANTU ULTRASONIK DENGAN MENGGUNAKAN PELARUT ALKOHOL. Reaktor 13, 231–236. <https://doi.org/10.14710/reaktor.13.4.231-236>
- Kuru, P., 2014. *Tamarindus indica* and its health related effects. Asian Pac. J. Trop. Biomed. 4, 676–681. <https://doi.org/10.12980/APJTB.4.2.014APJTB-2014-0173>
- Luengthanaphol, S., Mongkholkhajornsilp, D., Douglas, S., Douglas, P.L., Pengsopa, L., Pongamphai, S., 2004. Extraction of antioxidants from sweet Thai tamarind seed coat—preliminary experiments. J. Food Eng. 63, 247–252. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2003.07.006>
- Maiti, R., Jana, D., Das, U.K., Ghosh, D., 2004. Antidiabetic effect of aqueous extract of seed of *Tamarindus indica* in streptozotocin-induced diabetic rats. J. Ethnopharmacol. 92, 85–91. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2004.02.002>
- MARLIANA, S.D., SURYANTI, V., n.d. Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechium edule* Jacq. Swartz.) dalam Ekstrak Etanol 6.
- Molyneux, P., 2004. The use of the stable free radical diphenylpicryl- hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity 26, 9.
- Paula, F.S., Kabeya, L.M., Kanashiro, A., de Figueiredo, A.S.G., Azzolini, A.E.C.S., Uyemura, S.A., Lucisano-Valim, Y.M., 2009. Modulation of human neutrophil oxidative metabolism and degranulation by extract of *Tamarindus indica* L. fruit pulp. Food Chem. Toxicol. 47, 163–170. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2008.10.023>
- Razali, N., Aziz, A.A., Junit, S.M., 2010. Gene expression profiles in human HepG2 cells treated with extracts of the *Tamarindus indica* fruit pulp. Genes Nutr. 5, 331. <https://doi.org/10.1007/s12263-010-0187-5>
- Siddhuraju, P., 2007. Antioxidant activity of polyphenolic compounds extracted from defatted raw and dry heated *Tamarindus indica* seed coat. LWT - Food Sci. Technol. 40, 982–990. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2006.07.010>
- Soong, Y.-Y., Barlow, P.J., 2004. Antioxidant activity and phenolic content of selected fruit seeds. Food Chem. 88, 411–417. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.02.003>
- Sudjaroen, Y., Haubner, R., Würtele, G., Hull, W.E., Erben, G., Spiegelhalder, B., Changbumrung, S., Bartsch, H., Owen, R.W., 2005. Isolation and structure elucidation of phenolic antioxidants from Tamarind (*Tamarindus indica* L.) seeds and pericarp. Food Chem. Toxicol. 43, 1673–1682. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2005.05.013>
- Zou, T.-B., Xia, E.-Q., He, T.-P., Huang, M.-Y., Jia, Q., Li, H.-W., 2014. Ultrasound-Assisted Extraction of Mangiferin from Mango (*Mangifera indica* L.) Leaves Using Response Surface Methodology. Molecules 19, 1411–1421.

<https://doi.org/10.3390/molecules19021411>

