

## Potensi Beberapa Ekstrak Tumbuhan Asteraceae sebagai Antioksidan dan Antiglikasi

### *The Potency of Asteraceae Plants Extracts as Antioxidant and Antiglycation Agent*

#### Penulis

Eka Budiarti<sup>1</sup>, Irmanida Batubara<sup>1,2</sup>, Auliya Ilmiawati<sup>1</sup>

#### Afiliasi

<sup>1</sup>Departemen Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, IPB University, Bogor, Jawa Barat, 16680, Indonesia.

<sup>2</sup>Pusat Studi Biofarmaka Tropika, IPB University, Indonesia.

#### Kata Kunci

- ➔ ABTS
- ➔ *Adenostema lavenia*
- ➔ Antiglikasi
- ➔ Asteraceae
- ➔ DPPH
- ➔ *Sphagneticola trilobata*

#### Keywords

- ➔ ABTS
- ➔ *Adenostema lavenia*
- ➔ antiglycation
- ➔ Asteraceae
- ➔ DPPH
- ➔ *Sphagneticola trilobata*

Diterima 5 Agustus 2019

Direvisi 30 Oktober 2019

Disetujui 8 November 2019

#### \*Penulis Koresponding

Irmanida Batubara

email: ime@apps.ipb.ac.id

#### ABSTRAK

Tumbuhan Asteraceae dilaporkan mengandung metabolit sekunder tinggi yang aktif sebagai antioksidan. Senyawa antioksidan juga digunakan untuk mencegah penuaan/reaksi glikasi. Penelitian ini bertujuan menentukan aktivitas antioksidan dan antiglikasi 7 tumbuhan Asteraceae. Daun *Adenostema lavenia*, *Ageratum conyzoides*, *Dichrocephala integrifolia*, *Galinsoga parvifolia*, *Synedrella nodiflora*, *Mikania micrantha*, dan *Sphagneticola trilobata* masing-masing diekstraksi menggunakan air. Ekstrak kemudian ditentukan kandungan total fenol, flavonoid, dan aktivitas antioksidan menggunakan metode 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) dan 2,2'-azino-bis(3 ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS), serta aktivitas antiglikasi. Ekstrak dengan kadar total fenolik dan flavonoid tertinggi adalah ekstrak *M. micrantha*. Ekstrak *A. lavenia* memiliki aktivitas antioksidan terhadap DPPH tertinggi dengan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 121,82 µg/mL dan *A. conyzoides* tertinggi terhadap ABTS dengan kapasitas sebesar 4,51 mg trolox ekivalen (TE)/g ekstrak. Aktivitas antiglikasi tertinggi pada ekstrak *G. parvifolia* sebesar 90,67% yang tidak berbeda nyata dengan ekstrak *A. lavenia* (87,87%) dan *S. trilobata* (87,38%). Secara keseluruhan ekstrak *A. lavenia* dan *S. trilobata* baik dikembangkan sebagai antioksidan dan antiglikasi.

#### ABSTRACT

*Asteraceae plants are reported consisted of antioxidant component. Antioxidant also can be used to prevent aging/glycation reactions. This study aims to determine antioxidant and antiglycation activities of 7 Asteraceae plants. The leaves of Adenostema lavenia, Ageratum conyzoides, Dichrocephala integrifolia, Galinsoga parvifolia, Synedrella nodiflora, Mikania micrantha, and Sphagneticola trilobata were extracted using water. The total phenolic, total flavonoid content, antioxidant activity against 1,1-diphenyl-2-pikrilhidrazil (DPPH) and 2,2'-azino-bis (3 ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS), and antiglycation activities of all extract then were determined. The extract with the highest total phenolic and total flavonoid content was M. micrantha. A. lavenia extract had the highest antioxidant activity against DPPH with IC<sub>50</sub> of 121.82 µg/mL, while A. conyzoides had the highest antioxidant activity against ABTS of 4.51 mg trolox equivalent (TE)/g extract. The highest antiglycation activity was found on G. parvifolia extract of 90.67% which is not significantly different with the activity of A. lavenia extract (87.87%) and S. trilobata (87.38%). In general, A. Lavenia and S trilobata could be developed as antioxidant and antiglycation agent.*



## PENDAHULUAN

Glikasi adalah reaksi kimia nonenzimatik antara gula pereduksi dan gugus amino dari protein, asam nukleat atau fosfolipid akan membentuk *Advanced glycation end product* (AGEs) yang merupakan penyebab penuaan (Povichit et al. 2010). Selain reaksi glikasi, radikal bebas juga dapat memicu terbentuknya AGEs (Yagi et al. 2013). Untuk menghambat pembentukan AGEs dapat digunakan suatu bahan yang dapat menghambat reaksi glikasi dan radikal bebas seperti bahan antioksidan. Reaksi glikasi dapat dihambat menggunakan zat antiglikasi sedangkan radikal bebas dapat dihambat menggunakan antioksidan (Giancomoni dan Rein 2001).

Beragam cara dilakukan untuk mendapatkan bahan antiglikasi maupun antioksidan baik melalui jalur sintesis maupun menggunakan bahan alami. Selama ini tumbuhan dapat digunakan sebagai sumber antioksidan alami (Bernatoniene et al. 2011) dan juga dapat menjadi sumber antiglikasi. Di antara kerajaan plantae, famili Asteraceae merupakan famili terbesar kedua. Beberapa jenis tumbuhan famili ini dimanfaatkan sebagai antioksidan, antibakteri, dan antiinflamasi, hal ini disebabkan karena famili ini memiliki komponen senyawa bioaktif, seperti sesquiterpena, triterpen pentasiklik, diterpena, laktone, alkohol, alkaloid, tanin, polifenol, flavonoid, saponin, dan sterol yang dapat digunakan untuk bahan pengobatan (Wegiera et al. 2012; Erturk dan Demirbag 2003). *Adenostemma lavenia* merupakan salah satu jenis tumbuhan Asteraceae yang sering dianggap sebagai gulma/pengganggu namun memiliki kandungan yang bermanfaat. *A. lavenia* mengandung flavonoid, alkaloid, dan terpenoid yang tinggi (Kusumawati et al. 2003; Fauzan et al. 2017) yang berpotensi sebagai antioksidan (Stallings dan Lupo 2009). Berdasarkan penelitian yang telah dilaporkan, tumbuhan ini mengandung senyawa penghambat tirosinase dan antioksidan yaitu *11-hydroxylated kauranic acid* (Ko et al. 2008, Fauzan et al. 2017). Selain *A. lavenia*, tumbuhan Asteraceae lain juga berpotensi untuk dikembangkan sebagai antioksidan dan antiglikasi.

Pada penelitian ini digunakan *A. lavenia* dan 6 tumbuhan Asteraceae yang penampakannya mirip dengan *A. lavenia* dan diharapkan memiliki aktivitas antioksidan dan antiglikasi yang tinggi. Tumbuhan yang digunakan pada penelitian ini yaitu *A. lavenia*, *Ageratum conyzoides*, *Dichrocephala integrifolia*, *Galinsoga parviflora*, *Synedrella nodiflora*, *Mikaina micrantha*, dan *Sphagneticola trilobata*. Penelitian ini

bertujuan menentukan aktivitas antioksidan dan antiglikasi ekstrak air 7 tumbuhan.

## METODE

### Bahan

Jenis tumbuhan yang digunakan yaitu *A. lavenia*, *A. conyzoides*, *D. integrifolia*, *G. parviflora*, *S. nodiflora*, *M. micrantha*, dan *S. Trilobata* yang dikoleksi dari Unit Konservasi dan Budidaya Biofarmaka TropBRC di Darmaga, Bogor, Jawa Barat, Indonesia. Seluruh bahan tumbuhan dideterminasi di LIPI Biologi Cibinong Jakarta dan voucher specimen disimpan di Pusat Studi Biofarmaka Tropika LPPM IPB. Bahan kimia yang digunakan yaitu etanol 96%, methanol 99.8%, 2,2'-diphenylpicryl hydrazyl (DPPH), asam askorbat, bovine serum albumin (BSA), dan 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS) yang dibeli dari Sigma-Aldrich, St Louis, Amerika Serikat; Glukosa, fruktosa, pereaksi Folin Ciocalteu, natrium karbonat, asam galat, aluminium klorida heksahidrat, kalium asetat, kuersetin, dan kalium persulfat dibeli dari Merck, Whitehouse station, Amerika Serikat; Buffer fosfat (pH 7,4) dan akuades.

### Preparasi Sampel

Tujuh tumbuhan famili Asteraceae dibersihkan dan dikeringkan. Pengeringan dilakukan menggunakan oven pada suhu 40°C. Setelah kering, masing-masing sampel digiling hingga menjadi serbuk dengan ukuran 80 mesh. Kemudian serbuk kering sampel ditentukan kadar air dan kadar abunya mengacu pada metode standar AOAC (2016).

### Ekstraksi Sampel

Ekstraksi dilakukan dengan menggunakan pelarut air pada suhu 50°C. Simplisia ditimbang sebanyak 20 g, lalu dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan ditambahkan pelarut dengan nisbah 1:10 selama 3 jam. Ekstrak disaring menggunakan kain blacu dan dilanjutkan dengan kertas saring Whatmann, lalu filtrat yang diperoleh dipekatkan dengan penguap putar hingga diperoleh ekstrak kering. Rendemen ekstrak kemudian ditentukan berdasarkan bobot keringnya menggunakan konversi kadar air.

### Penentuan Total Fenolik

Penentuan total fenolik mengacu pada metode Singleton et al. (1999). Kandungan fenolik total ditentukan dengan pereaksi Folin-Ciocalteu menggunakan pelat 96-sumur. Dua puluh mikroliter ekstrak ditambahkan dengan 110 µL pereaksi Folin-



Ciocalteu lalu ditambahkan 70  $\mu\text{L}$  larutan natrium karbonat, diinkubasi pada suhu  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  selama 30 menit dan diukur absorbansnya pada panjang gelombang 765 nm. Asam galat digunakan sebagai standar dengan konsentrasi 5, 10, 30, 50, 70, dan 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . Total fenolik dilaporkan sebagai asam galat ekivalen (GAE)/g ekstrak.

#### Penentuan Total Flavonoid

Penentuan total flavonoid mengacu pada metode Lee *et al.* (2011). Kandungan flavonoid total ditentukan menggunakan aluminium klorida. Sebanyak 10  $\mu\text{L}$  ekstrak dicampur dengan 60  $\mu\text{L}$  metanol, 10  $\mu\text{L}$  aluminium klorida (10% w/v), 10  $\mu\text{L}$  potassium asetat (1M), dan 110  $\mu\text{L}$  akuades pada pelat 96-sumur dan diinkubasi pada suhu ruang selama 30 menit. Absorbans diukur pada panjang gelombang 415 nm. Kuersetin digunakan sebagai standar dengan deret konsentrasi sebesar 6,25, 12,5, 25, 50, dan 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . Total flavonoid dilaporkan sebagai g kuersetin ekivalen (KE)/g ekstrak.

#### Uji Aktivitas Antioksidan Metode DPPH.

Penentuan aktivitas antioksidan DPPH mengacu pada metode Batubara *et al.* (2009). Seratus mikroliter ekstrak dan 100  $\mu\text{L}$  DPPH (2.45 mg DPPH dalam 50 mL etanol) ditambahkan ke dalam masing-masing sumur dari pelat 96-sumur. Setelah diinkubasi 30 menit pada suhu ruang, absorbans diukur pada panjang gelombang 514 nm. Asam askorbat digunakan sebagai kontrol positif. Aktivitas antioksidan terhadap DPPH dilaporkan sebagai konsentrasi penghambatan radikal 50% ( $\text{IC}_{50}$ ).

#### Uji Aktivitas Antioksidan Metode ABTS.

Penentuan aktivitas antioksidan ABTS mengacu pada metode Re *et al.* (1999). Larutan ABTS radikal disiapkan dengan cara mencampurkan 10 mL ABTS 7 mM dengan 5 mL  $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$  2,45 mM selama 12-16 jam di tempat gelap. Sebanyak 180  $\mu\text{L}$  ABTS radikal tersebut direaksikan dengan 20  $\mu\text{L}$  ekstrak dan diinkubasi pada suhu ruang selama 15 menit. Absorbans campuran kemudian diukur pada panjang gelombang 734 nm. Trolox digunakan sebagai standar dan aktivitas antioksidan dilaporkan dalam mg Trolox ekivalen (TE)/g ekstrak.

#### Uji Aktivitas Antiglikasi

Penentuan aktivitas antiglikasi mengacu pada metode Povichit *et al.* (2010). Ekstrak masing-masing sampel dilarutkan dalam akuades sampai konsentrasi

ekstrak 1000  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . Aminoguanidin digunakan sebagai standar. Seluruh larutan uji tersebut diinkubasi pada suhu  $60^\circ\text{C}$  selama 40 jam. Setelah inkubasi, larutan kemudian dipipet sebanyak 100  $\mu\text{L}$  ke dalam sumur pelat 96-sumur. Jumlah relatif BSA yang terglifikasi diukur menggunakan fluorometer pada panjang gelombang eksitasi 330 nm dan emisi 440 nm.

#### Analisis Statistika

Analisis statistika diperlukan untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan yang signifikan dari hasil yang diperoleh pada 7 ekstrak tumbuhan. Analisis statistika dilakukan menggunakan program SPSS 16.0 dengan analisis menggunakan *One Way ANOVA* dan dilanjutkan dengan analisis lanjutan berupa uji Duncan dengan menggunakan selang kepercayaan 95%.

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### Kadar Air dan Kadar Abu

Penentuan kadar air dan kadar abu dilakukan untuk mengetahui kualitas bahan yang digunakan, selain itu, kadar air juga digunakan sebagai koreksi untuk penentuan rendemen ekstrak. Kadar air dan kadar abu 7 sampel yang digunakan dapat dilihat pada Tabel 1. Kadar air seluruh sampel berbeda nyata pada  $\alpha = 0,05$ . *G. parviflora* memiliki kadar air tertinggi yaitu 9,29% dan terendah dimiliki *S. nodiflora* yaitu 7,05%. Kadar air yang baik adalah kadar air yang kurang dari 10%, agar tumbuhnya jamur dan kapang pada bahan dapat dikurangi (Salamah dan Farahan 2014). Kadar air semua sampel yang digunakan tergolong baik menurut Farmakope Herbal Indonesia (FHI) dan Materia Medika Indonesia (MMI) (Ditjen POM 1995). Hal ini juga menunjukkan bahwa proses pengeringan sebelum analisis lebih lanjut telah berlangsung dengan baik.

Kadar abu digunakan untuk mengetahui kandungan mineral dalam suatu simplisia. Kadar abu tertinggi diperoleh pada *D. integrifolia* sebesar 13,86% dan kadar abu terendah pada *S. trilobata* sebesar 9,15% yang tidak berbeda nyata dengan kadar abu *A. lavenia*. Semakin tinggi kadar abu simplisia maka semakin besar kandungan logam mineral, garam organik, dan garam anorganiknya. Dalam hal ini, *D. integrifolia* mengandung logam mineral, garam organik, atau garam anorganik yang tinggi, namun kadar abu yang didapat masuk memenuhi syarat FHI yaitu kurang dari 14% (Ditjen POM 1995).



**Tabel 1.** Kadar Air Dan Kadar Abu 7 Sampel Tumbuhan

Sampel	Kadar Air (%) $\pm$ SD	Kadar Abu (%) $\pm$ SD
<i>A. conyzoides</i>	7,980 $\pm$ 0,374 <sup>b</sup>	11,20 $\pm$ 0,45 <sup>c</sup>
<i>A. lavenia</i>	7,973 $\pm$ 0,119 <sup>b</sup>	9,63 $\pm$ 0,08 <sup>b</sup>
<i>D. integrifolia</i>	9,287 $\pm$ 0,017 <sup>d</sup>	13,86 $\pm$ 0,34 <sup>e</sup>
<i>G. parviflora</i>	8,522 $\pm$ 0,416 <sup>bc</sup>	12,47 $\pm$ 0,28 <sup>d</sup>
<i>M. michranta</i>	9,104 $\pm$ 0,227 <sup>cd</sup>	11,33 $\pm$ 0,11 <sup>c</sup>
<i>S. nodiflora</i>	7,048 $\pm$ 0,581 <sup>a</sup>	12,23 $\pm$ 0,17 <sup>d</sup>
<i>S. trilobata</i>	8,786 $\pm$ 0,062 <sup>cd</sup>	9,15 $\pm$ 0,05 <sup>a</sup>

Keterangan: Huruf yang berbeda di belakang angka pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang signifikan pada  $\alpha=0.05$ .

**Tabel 2.** Rendemen, Total Fenolik, dan Total Flavonoid Ekstrak Air, Fraksi Air, dan Fraksi Kloroform

Ekstrak	Rendemen (%) $\pm$ SD	Total Fenolik (mg GAE/g ekstrak) $\pm$ SD	Total Flavonoid (mg KE/g ekstrak) $\pm$ SD
<i>A. conyzoides</i>	15,71 $\pm$ 1,49 <sup>c</sup>	10,14 $\pm$ 0,05 <sup>b</sup>	0,80 $\pm$ 0,06 <sup>b</sup>
<i>A. lavenia</i>	34,18 $\pm$ 4,75 <sup>f</sup>	12,83 $\pm$ 0,42 <sup>c</sup>	0,48 $\pm$ 0,11 <sup>a</sup>
<i>D. integrifolia</i>	17,53 $\pm$ 0,87 <sup>d</sup>	17,18 $\pm$ 0,57 <sup>d</sup>	1,41 $\pm$ 0,09 <sup>c</sup>
<i>G. parviflora</i>	14,06 $\pm$ 2,73 <sup>b</sup>	4,75 $\pm$ 0,64 <sup>a</sup>	1,28 $\pm$ 0,06 <sup>c</sup>
<i>M. michranta</i>	12,16 $\pm$ 2,38 <sup>a</sup>	19,05 $\pm$ 0,19 <sup>e</sup>	4,35 $\pm$ 0,26 <sup>b</sup>
<i>S. nodiflora</i>	14,91 $\pm$ 1,55 <sup>b</sup>	10,76 $\pm$ 0,70 <sup>b</sup>	2,34 $\pm$ 0,17 <sup>f</sup>
<i>S. trilobata</i>	19,77 $\pm$ 2,51 <sup>e</sup>	9,96 $\pm$ 0,04 <sup>b</sup>	2,03 $\pm$ 0,04 <sup>e</sup>

Keterangan: Huruf yang berbeda di belakang angka pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang signifikan pada  $\alpha=0.05$

### Rendemen

Ekstraksi merupakan proses pengambilan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut cair. Dengan diketahui senyawa aktif yang dikandung simplisia akan mempermudah pemilihan pelarut dengan cara ekstraksi yang tepat (Ditjen POM 1995). Pemilihan metode ekstraksi didasarkan pada sifat bahan atau senyawa, efektivitas yang berkaitan dengan jumlah senyawa yang terekstraksi, dan efisiensi meliputi biaya dan waktu (Harvey 2009). Metode ekstraksi yang digunakan yaitu maserasi dengan suhu 50°C selama 3 jam menggunakan pelarut air. Metode ini dipilih karena cukup mudah dilakukan dan tidak membutuhkan waktu yang lama serta air merupakan pelarut pengestraksi yang diizinkan oleh Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM) Republik Indonesia (Ditjen POM 1995). Ekstraksi pada 7 jenis tumbuhan dilakukan menggunakan pelarut air dengan perbandingan 1:10 (b/v). Rendemen ekstrak air ketujuh tumbuhan ditunjukkan pada Tabel 2. *A. lavenia* memiliki rendemen tertinggi yaitu sebesar 34,18% dan *M. michranta* memiliki rendemen terendah yaitu sebesar 12,16%.

### Kandungan Total Fenolik

Penentuan kandungan total fenolik dilakukan dengan metode Folin-Ciocalteu (metode kesetaraan asam galat). Reagen Folin-Ciocalteu yang mengandung fosfomolibdat-asam fosfotungstat berperan sebagai agen pengoksidasi akan bereaksi dengan senyawa fenolik di dalam ekstrak/fraksi membentuk senyawa kompleks molibdenum-tungstat berwarna biru (SingInton *et al.* 1999; Chen *et al.* 2012). Pembentukan kompleks warna biru ini sebanding dengan jumlah senyawa fenolik yang terkandung dalam suatu sampel (Dai dan Mumper 2010). Senyawa fenolik merupakan senyawa kimia yang terdiri dari gugus hidroksil (-OH) yang terikat langsung dengan gugus hidrokarbon aromatik. Gugus hidroksil dalam senyawa fenolik dapat mendonorkan atom hidrogen melalui mekanisme transfer elektron sehingga proses oksidasi dapat dihambat, sehingga dapat digunakan sebagai antioksidan. Semua senyawa fenolik termasuk fenol sederhana dapat bereaksi dengan pereaksi Folin-Ciocalteu (Heim *et al.* 2002) Senyawa fenolik merupakan salah satu metabolit sekunder kelas besar yang terdiri dari beberapa macam, salah satunya flavonoid.



Asam galat (asam 3,4,5-trihidroksibenzoat), senyawa fenolik yang memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi (Marjoni *et al.* 2018), digunakan dalam penelitian ini sebagai standar. Total fenolik yang diperoleh pada ekstrak air 7 jenis tumbuhan ditunjukkan pada Tabel 2. Total fenolik tiap ekstrak berbeda nyata pada  $\alpha=0,05$  dan total fenolik tertinggi ditemukan pada ekstrak *M. michranta* sebesar 19,05 mg GAE/g ekstrak dan terendah pada *G. parviflora* sebesar 4,75 mg GAE/ g ekstrak. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Idris *et al.* (2018), ekstrak air *M. michranta* memiliki total fenolik lebih kecil dibandingkan hasil penelitian ini yaitu sebesar 11,00 mg GAE/g ekstrak. Kadar fenolik yang tinggi diharapkan akan menunjukkan aktivitas antioksidan yang tinggi.

#### **Kandungan Total Flavonoid**

Flavonoid merupakan kelompok senyawa fenolik yang paling umum ditemukan pada tumbuhan yang juga berperan sebagai antioksidan. Prinsip penentuan total flavonoid dengan  $AlCl_3$  adalah dengan pembentukan kompleks stabil antara  $AlCl_3$  dengan C-4 gugus keto dan setiap C-3 atau C-5 gugus hidroksil dari flavon dan flavonol (Chang *et al.* 2002) membentuk warna kuning (Popova *et al.* 2004).

Kuersetin digunakan sebagai standar pada penentuan total flavonoid karena kuersetin tergolong flavonol yang memiliki gugus keto pada C-4 dan gugus hidroksi pada C-3 atau C-5 yang bertetangga sehingga mudah dideteksi dengan metode ini (Azizah *et al.* 2014). Total flavonoid ekstrak air pada penelitian terangkum pada Tabel 2. Ekstrak pada penelitian ini memiliki total flavonoid yang berbeda nyata satu dengan lainnya dan nilai tertinggi ditemukan pada ekstrak *M. michranta* yang juga memiliki total fenolik paling tinggi. Sementara total fenolik terendah ditemukan pada *A. lavenia*. Hasil penelitian ini menunjukkan total flavonoid yang lebih tinggi dibandingkan hasil penelitian Idris *et al.* (2018) yaitu hanya sebesar 11,33 mg KE/g ekstrak. Total fenolik seluruh ekstrak pada

penelitian ini lebih tinggi dibandingkan dengan total flavonoid. Hal ini dapat dipahami karena fenolik merupakan kelompok senyawa yang lebih besar dimana di dalam terkandung senyawa flavonoid dan senyawa fenolik lainnya. Seperti halnya total fenolik, dengan total flavonoid yang tinggi diharapkan akan memberikan aktivitas antioksidan dan antiglikasi yang tinggi.

#### **Aktivitas Antioksidan Metode DPPH**

Aktivitas antioksidan menggunakan metode penangkapan radikal bebas stabil DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) menggunakan prinsip donasi atom hidrogen dari substansi yang diujikan pada radikal DPPH (Molyneux 2004). Aktivitas antioksidan awalnya ditentukan pada konsentrasi ekstrak 1000  $\mu$ g/mL dan hasilnya dilaporkan dalam % penghambatan (Tabel 3). Penghambatan reaksi penangkapan radikal DPPH pada tiap ekstrak air pada konsentrasi 1000  $\mu$ g/mL berbeda nyata pada  $\alpha=0,05$  yaitu mulai dari 11,89% pada ekstrak *D. integrifolia* hingga 91,28% pada ekstrak *A. lavenia*.

Untuk memastikan aktivitas tiap ekstrak, ditentukan pula nilai  $IC_{50}$  antioksidannya. Semakin rendah nilai  $IC_{50}$ , maka semakin tinggi aktivitas antioksidannya suatu bahan yaitu radikal bebas dapat ditangkap oleh senyawa antioksidan hanya dengan konsentrasi yang rendah. Nilai  $IC_{50}$  antioksidan seluruh ekstrak terangkum pada Tabel 3. Hasilnya menunjukkan bahwa nilai ini berbeda nyata satu dengan lainnya pada  $\alpha=0,05$  dan nilai terendah ditemukan pada ekstrak air *A. lavenia* yang nilainya tidak berbeda nyata dengan ekstrak *S. trilobata*. Lima ekstrak tumbuhan lainnya tidak berpotensi sebagai antioksidan menurut Molyneux (2004) karena memiliki  $IC_{50}$  lebih besar dari 1000  $\mu$ g/mL (Tabel 3). Aktivitas antioksidan seluruh ekstrak pada penelitian ini tidak sebaik asam askorbat sebagai kontrol positif yang memiliki nilai  $IC_{50}$  sebesar 4,06  $\mu$ g/mL.



**Tabel 3.** . Aktivitas Antioksidan DPPH , ABTS, dan Antiglikasi Tujuh Ekstrak Air

Ekstrak	Aktivitas antioksidan			Inhibisi glikasi (%) ± SD (1000 µg/mL)
	Inhibisi DPPH (%)±SD (1000 µg/mL)	IC <sub>50</sub> DPPH (µg/mL)±SD	ABTS (mg TE/g ekstrak) ± SD	
<i>A. conyzoides</i>	50,05±0,74 <sup>d</sup>	1054,10±54,37 <sup>c</sup>	4,51±0,05 <sup>f</sup>	17,99±4,39 <sup>a</sup>
<i>A. lavenia</i>	91,28±1,39 <sup>f</sup>	121,82±15,84 <sup>b</sup>	3,38 ± 0,17 <sup>c</sup>	87,87±11,17 <sup>c</sup>
<i>D. integrifolia</i>	11,89±2,38 <sup>a</sup>	>2000	2,08 ± 0,73 <sup>b</sup>	-
<i>G. parviflora</i>	23,33±2,26 <sup>b</sup>	>2000	0,44 ± 0,08 <sup>a</sup>	90,67 ± 8.83 <sup>c</sup>
<i>M. michranta</i>	24,01±0,20 <sup>b</sup>	1713,95±29,27 <sup>d</sup>	0,32 ± 0,05 <sup>a</sup>	-
<i>S. nodiflora</i>	37,32±0,59 <sup>c</sup>	>2000	4,39 ± 0,09 <sup>e</sup>	-
<i>S. trilobata</i>	77,96±1,32 <sup>e</sup>	148,91 ±12,51 <sup>b</sup>	4,06 ± 0,02 <sup>d</sup>	87,38±1,76 <sup>c</sup>
Asam askorbat	-	4,06 ± 0,03 <sup>a</sup>	-	-
Aminoguanidin	-	-	-	73,00 ± 3,26 <sup>b</sup>

Keterangan:

- Huruf yang berbeda di belakang angka pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang signifikan pada  $\alpha=0.05$ .
- Tanda (-) menunjukkan bahwa sampel tidak menunjukkan bahwa sampel tidak memiliki aktivitas antiglikasi pada 1000 µg/ml

Aktivitas antioksidan berhubungan dengan kandungan total fenolik dan flavonoid. Namun, tidak selalu berkorelasi positif dengan kandungan total fenolik. Pada penelitian ini, tingginya kandungan total fenolik/flavonoid dari ekstrak tidak memiliki korelasi tinggi dengan aktivitas antioksidannya, terbukti dengan hasil uji korelasi Pearson dengan nilai  $r=0,452$  (korelasi cukup) antara kandungan total fenolik dengan inhibisi antioksidannya dan signifikan pada level 0,05. Namun korelasi antara total flavonoid dengan antioksidannya rendah, dengan  $r=-0,397$ . Ekstrak *M. michranta* yang memiliki kandungan fenolik dan flavonoid tertinggi dibandingkan ekstrak lainnya, memiliki aktivitas penangkapan radikal DPPH yang lemah. Hal ini menunjukkan bahwa yang bertanggung jawab terhadap aktivitas antioksidan tidak hanya senyawa golongan fenolik dan flavonoid, namun juga senyawa lain seperti terpenoid. Salah satu terpenoid yang dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi dalam *A. lavenia* dan *S. trilobata* adalah 11-hydroxylated kauranic acid (Ko et al. 2008; Ma et al. 2013; Fauzan et al 2017). Selain itu, aktivitas flavonoid sebagai antioksidan bergantung pada struktur molekulnya (Bhaigyabati et al. 2014).

#### Aktivitas Antioksidan Metode ABTS

Aktivitas antioksidan ditentukan juga menggunakan metode peredaman radikal ABTS yang dilaporkan sebagai kapasitas antioksidan pada sampel yang dinyatakan dalam mg trolox ekuivalen (TE)/g ekstrak (Wang et al. 2004, Shaich et al. 2015). Aktivitas

antioksidan ABTS ketujuh ekstrak disajikan pada Tabel 3. Hasil menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan ABTS bervariasi dan berbeda secara nyata pada  $\alpha=0,05$ . Aktivitas antioksidan ABTS tertinggi ditemukan pada ekstrak *A. conyzoides* yang diikuti oleh ekstrak *S. nodiflora* dan *S. trilobata*. Sedangkan aktivitas antioksidan ABTS terendah ditemukan pada ekstrak *M. michranta* yang tidak berbeda nyata dengan ekstrak *G. parvifolia*.

Metode ABTS dan DPPH menggunakan spektrofotometer untuk mengukur penurunan nilai absorbansi karena menangkalkan radikal bebas (Shalaby dan Shanab 2013). Hasil dari kedua metode ini tidak selalu berkorelasi, hal ini disebabkan jenis radikal bebas dan mekanisme penangkapan radikal bebas yang berbeda. Berdasarkan uji korelasi Pearson diperoleh nilai  $r=0,591$  (korelasi kuat) antara nilai inhibisi DPPH dengan aktivitas ABTS dan signifikan pada level 0,01. Berdasarkan hubungan aktivitas antioksidan ABTS dan kandungan fenolik dan flavonoid total menunjukkan bahwa tidak berkorelasi positif yang ditunjukkan oleh nilai  $r=-0,206$  untuk total fenolik dan  $-0,433$  untuk total flavonoidnya.

#### Aktivitas Antiglikasi

Antiglikasi merupakan zat yang dapat menghambat terjadinya reaksi glikasi protein yang menghasilkan *advanced glycation end products* (AGEs). AGEs diproduksi melalui reaksi *Maillard* yang ditandai dengan adanya asam amino teralkilasi, residu fluoresens, dan ikatan silang intramolekul maupun



intermolekul. BSA yang merupakan sumber amina, dapat digunakan sebagai target terjadinya glikasi protein. Protein yang terglykasi akan menghasilkan radikal bebas 50 kali lebih banyak daripada protein yang tidak terglykasi (Setiawan dan Suhartono 2005).

Penentuan aktivitas antiglikasi pada ekstrak air dilakukan dengan menggunakan konsentrasi 1000 µg/mL dan hasilnya dapat dilihat pada Tabel 3. Aktivitas antiglikasi ketujuh sampel berbeda nyata pada  $\alpha=0,05$ . Aktivitas antiglikasi tertinggi ditemukan pada ekstrak air *G. parviflora* yang berdasarkan analisis statistika tidak berbeda secara signifikan dengan aktivitas *A. lavenia* dan *S. trilobata*. Aktivitas antiglikasi semua sampel dibandingkan dengan kontrol positif, yaitu amionoguanidin pada konsentrasi yang sama dan menunjukkan ketiga sampel dengan aktivitas tertinggi lebih baik dibandingkan control positif. Sementara ekstrak *D. integrifolia*, *M. michranta*, dan *S. nodiflora* tidak dapat menghambat reaksi glikasi.

Glikasi dapat dihambat melalui beberapa mekanisme seperti menghambat produksi basa Schiff dan produk amadori, menghambat perbanyakan produk amadori pada fase selanjutnya, menghambat agregasi AGEs, mengurangi pembentukan AGEs melalui pencegahan oksidasi produk amadori dan glukosidasi katalisis logam, dan aktivitas antioksidan (Zahra *et al.* 2016, Dil *et al.* 2019). Antioksidan juga dapat menangkal radikal bebas seperti oksigen reaktif yang dapat mempercepat proses glikasi sehingga antioksidan dapat menjadi sumber antiglikasi (Ndlovu *et al.* 2013). Namun, nilai aktivitas antiglikasi tidak selalu berkorelasi positif dengan nilai aktivitas antioksidan. Hal ini disebabkan karena kedua aktivitas tersebut memiliki mekanisme reaksi yang berbeda. Berdasarkan uji korelasi Pearson, aktivitas antiglikasi berkorelasi dengan inhibisi oksidasi DPPH dengan nilai  $r=0,603$  (korelasi kuat) pada  $\alpha=0,05$ , sedangkan dengan aktivitas antioksidan ABTS tidak berkorelasi ( $r = -0,019$ ). Pada penelitian ini juga tidak ditemukan hubungan antara aktivitas antiglikasi dengan total fenolik dan flavonoid yang ditunjukkan oleh nilai  $r=-0,104$  untuk total fenolik dan  $-0,299$  untuk total flavonoid.

## SIMPULAN

Ekstrak ketujuh tumbuhan Asteraceae pada penelitian ini memiliki aktivitas antioksidan dan antiglikasi yang berbeda-beda. Untuk dikembangkan sebagai bahan antiglikasi dan antioksidan, ekstrak air *A. lavenia* yang memiliki  $IC_{50}$  antioksidan DPPH sebesar 121,82 µg/mL dan inhibisi glikasi 87,87 %, serta ekstrak

air *S. trilobata* yang memiliki  $IC_{50}$  antioksidan DPPH sebesar 148.91 µg/mL, kapasitas antioksidan ABTS 4,06 mgTE/g ekstrak, dan penghambatan glikasi 87,38% dapat dipilih.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan terima kasih kepada Kemenristekdikti yang memberikan dana pada Penelitian Dasar Unggulan Perguruan Tinggi (PDUPT) No. 4160/1T3.LI/PN/2019.

## DAFTAR PUSTAKA

- [AOAC]. The Association of Official Analytical Chemist. 2016. Official Methods of Analisis Ed ke-20. Washington DC (US): Association of Official Analytical Chemist.
- Azidah DN, Kumolowati E, Faramayuda F. 2014. Penetapan kadar flavonoid metode  $AlCl_3$  pada ekstrak metanol kulit buah kakao (*Theobroma cacao* L.) *Kartika Jurnal Ilmiah Farmasi*. 2(2): 45-49.
- Batubara I, Mitsunaga T, Ohashi H. 2009. Screening antiacne potency of Indonesian medical plants: antibacterial, lipase inhibition, and antioxidant activities. *J. Wood Sci*. 55:230-235.
- Bernatoniene J, Masteikova R, Davalgiene J, Peciura R, Gauryliene R, Bernatoniene R. 2011. Topical application of *calendula officinalis* (L); formulation and evaluation of hydrophilic with antioxidant activity. *Journal of Medicinal Plant Research*. 5:868-877.
- Bhaigyabati T, Devi P, Bag G. C. 2014. Total flavonoid content and antioxidant activity of aqueous rhizome extract of three *Hedychium* Species of Manipur Valley. *Research Journal of Pharmaceutical Biological and Chemical Sciences*. 5(5): 970-976.
- Chang CC, Yang MH, Wen HM, Chern JC. 2002. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis*. 10:178-182.
- Chen CM, Lin CY, Lin LC, Wan TC. 2012. Antioxidant activity and total phenolic contents of various *Toona sinensis* extracts. *African Journal of Biotechnology*. 11:13831-13837.
- Dai J, Mumper RJ. 2010. Plant phenolic: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules*. 15:7313-7352.
- Dil FA, Ranjkesh Z, Goodarzi MT, 2019. A systematic review of antiglycation medicinal plants. *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews*. 13(2):1225-1229



- Ditjen POM. 1995. Farmakope Indonesia. Edisi keempat. Jakarta (ID) : Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Erturk O, Demirbag Z. 2003. *Scorzonare mollis* Bieb (Compositae) bitkisinin antimikrobiale aktivasi. *Cerve Komura*. 12:27-31.
- Fauzan A, Praseptiangga D, Hartanto R, Pujiasmanto B. 2017. Characterization of the chemical composition of *Adenostemma lavenia* (L.) Kuntze and *Adenostemma platyphyllum* Cass. *Earth and Environmental Science*. 102(2018): 1-8.
- Giancomoni PU, Rein G. 2001. Factors of skin aging share common mechanisms. *Journal Biogerontology*. 2:219-229.
- Harvey D. 2009. *Analytical Chemistry 2.0 Electronic versions*. McGrawHill.
- Heim KE, Tagliaferro AR, Bobilya DJ. 2002. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationship. *Journal of Nutritional Biochemistry*. 13:572-584.
- Idris A, Linatoc AC, Surayya MM, Aisha MA, Mohd FAB. 2018. Effect of light intensity of the total flavonoid and total phenolic contents of *Mikaina mihranta* and *Tridax procumbens*. 10(4):1-7.
- Ko HH, Chang WL, Lu TM. 2008. Antityrosinase and antioxidant effect of ent-kaurane diterpenes from leaves of *Broussonetia papyrifera*. *Journal Natural Product*. 71: 1930-1933.
- Kusumawati I, Djatmiko W, Rahman A, Studiawan H, Ekasari W. 2003. Eksplorasi keanekaragaman dan kandungan kimia tumbuhan obat di hutan tropis Gunung Arjuno. *Jurnal Bahan Alam Indonesia*. 2(3) : 100 – 104.
- Lee SH, Sancheti SA, Bafna MR, Sancheti SS, Seo SY. 2011. *Acetylcholinesterase* inhibitory and antioxidant properties of *Rhododendron yedoense* var. *Poulhanense* bark. *Journal of Medicinal Plants Research*. 5:248-254.
- Ma BJ, Wen CN, Gao Y, Ren FC, Wang F, Liu JK. 2013. Ent-kaurane diterpenoids from the *Wedelia trilobata*. *Natural Product and Bioprospect*. 3: 107-111.
- Marjoni MR, Nofita D, Rahmi N, Saifullah, Najia NA. 2018. Phenolic compound, flavonoids and antioxidant activity of Arum Manis leaves. *International Journal of Green Pharmacy*. 12(3): 1-6.
- Molyneux, P. 2004. The Use of The Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. *Journal of Science and Technology*. 26 (2): 211-219.
- Ndlovu G, Gerda F, Maleva T, Werner C, Vanessa S. 2013. In vitro determination of the anti-aging potential of four southern african medicinal plants. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 13:1-7.
- Popova M, Bankova V, Butovska D, Petkov V. 2004. Validated methods for the quantification of biologically active constituents of poplar-type propolis. *Phytochemical Analysis*. 15: 235–240.
- Povichit GV, Phrutivorapongkul A, Suttaji M, Chaiyasut C, Leelapornpisid P. 2010. Phenolic content and in vitro inhibitory effects on oxidation and protein glycation of some Thai medicinal plants. *Pak. J. Pharm. Sci*. 2(4): 403-408.
- Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Evans CR. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*. 26:1231-1237.
- Salamah N, Farahan L. 2014. Uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol herba pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb) dengan metode fosfomolibdat. *Pharmaciana*. 4:23-30.
- Setiawan B, Suhartono E. 2005. Stress oksidatif dan peran antioksidan pada diabetes melitus. *Majalah kedokteran Indonesia*. 55(2):87-90.
- Shaich KM, Tian X, Xie J. 2015. Reprint of hurdles and pitfalls in measuring antioxidant efficacy a critical evaluation of ABTS, DPPH, and ORAC assays. *Journal of Functional Foods*. 1-15.
- Shalaby EA, Shanab SMM. 2013. Review: Antioxidant compounds, assays of determination and mode of action. *African Journal Pharmacy and Pharmacology*. 7:528-539.
- Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventos RM. 1999. Analysis of total phenol and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*. 299C: 152-178.
- Stallings AF, Lupo MP. 2009. Practical uses of botanicals in skin care. *Journal of Clinical Aesthetic Dermatology*. 2:36-40.
- Wang CC, Chu CY, Chu KO, Choy KW, Khaw KS, Rogers MS, Pang CP. 2004. Trolox-equivalent antioxidant capacity assay versus oxygen radical absorbance capacity assay in plasma. *Clinical Chemistry*. 50:952-954.



- Wegiera M, Smolarz HD, Jedruch M, Korczat M, Kopron K. 2012. Cytotoxic effect of some medicinal plant from Asteraceae family on J-45.01 leukemic cell line—pilot study. *Acta Policy Pharmacology*. 69(2): 1-8.
- Yagi S, Drouart N, Bourgaud F, Henry M, Chapleur Y, Mattar DL. 2013. Antioxidant and antiglycation properties of *Hydnora johannis* roots. *South African Journal of Botany*. 84:124-127.
- Zahra U, Kartika Y, Batubara I, Darusman LK, Maddu A. 2016. Short communication: Screening the potency of Zingiberaceae leaves as antioxidant and antiaging agent. *Nusantara Bioscience*. 8:221-225.

