

Aktivitas Antioksidan dan Anti-aging dari Ekstrak Buah dan Daun Zodia (*Evodia suaveolens* J.R. Forst & G. Forst)

Antioxidant and Anti-aging Activities from Zodia (Evodia suaveolens J.R. Forst & G. Forst) Fruit and Leaf Extract

Penulis Greesty F. Swandiny^{1*}, Yesi Desmiaty¹, Haura Usna Rahmah¹

Afiliasi ¹ Fakultas Farmasi Universitas Pancasila

Kata Kunci

- antioksidan
- anti elastase
- *Evodia suaveolens*

Keywords

- *antioxidants*
- *anti elastases*
- *Evodia suaveolens*

Diterima 3 Maret 2020

Direvisi 19 Februari 2022

Disetujui 13 Mei 2022

*Penulis Koresponding

Greesty F. Swandiny

email:

greestyfnotory@univpancasila.ac.id

ABSTRAK

Penuaan merupakan proses alami yang terjadi pada semua makhluk hidup, termasuk manusia. Salah satu bentuk terjadinya penuaan adalah terbentuknya *wrinkle* (kerutan) pada kulit akibat berkurangnya aktivitas enzim elastase. Aktivitas enzim elastase dapat dihambat oleh senyawa golongan flavonoid dan fenolik. Salah satu tanaman asli Indonesia yang diketahui memiliki kandungan flavonoid dan fenolik adalah tanaman zodia (*Evodia suaveolens*) dari familia *Rutaceae*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan dan anti-aging dari ekstrak etanol buah dan daun zodia. Ekstrak buah dan daun zodia dibuat secara refluks menggunakan pelarut etanol 96%. Ekstrak yang diperoleh ditapis golongan fitokimia, ditentukan aktivitas antioksidan dengan metode 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) dan uji aktivitas anti elastase sebagai anti-penuaan. Hasil penapisan fitokimia terhadap ekstrak buah dan daun zodia menunjukkan adanya senyawa flavonoid, saponin, tanin katekuat, steroid, dan minyak atsiri. Hasil uji aktivitas antioksidan dengan metode peredaman DPPH diperoleh IC₅₀ dari ekstrak daun zodia, yang lebih besar dari ekstrak buah zodia sebesar 264,15 ppm dan 121,59 ppm. Aktivitas antielastase dilanjutkan terhadap ekstrak buah zodia dan didapat nilai IC₅₀ sebesar 145,67 ppm. Senyawa fitokimia yang terkandung di dalam buah zodia diperkirakan sebagai metabolit yang berperan sebagai antioksidan dan anti-penuaan.

ABSTRACT

Aging is a natural process that occurs in every living organism, including humans. Skin wrinkle, caused by deterioration activity of the elastase enzyme, is one example of the aging process. The activity of the elastase enzyme could be inhibited by flavonoid and phenolic compounds. Zodia (Evodia suaveolens) from the family of Rutaceae is one of the indigenous Indonesian plants widely known as rich in flavonoid and phenolic compounds. The purpose of this study is to explore antioxidant and anti-aging activity from ethanolic extract of fruit and leaf Zodia. The extracts were prepared by refluxing fruit and leaf zodia in 96% ethanol. The obtained extracts were characterized for the phytochemical constituent and its antioxidant activity determined using the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method as well as anti-elastase activity for anti-aging evaluation. Phytochemical analysis of both samples showed the presence of flavonoids, saponins, tannins, steroids and essential oils. The calculation of IC₅₀ in antioxidant activity using the DPPH method showed that ethanolic extract of zodia leaf (264.15 ppm) was higher compared to fruit extract (121.59 ppm). The fruit extract was further tested for anti elastase activity with IC₅₀ of 145.67 ppm. In conclusion, the presence of phytochemicals in zodia fruit may be responsible for the antioxidant and anti-aging activities.



PENDAHULUAN

Penggunaan tanaman sebagai obat herbal dan kosmetik yang terus meningkat, berdampak pada industri obat dan kosmetik bahan alam yang terus berkembang (Moeloek,2006). Banyak tanaman hasil eksploitasi dari hutan yang diuji dan memiliki aktivitas biologi akhirnya dibudidayakan, dipanen dan diekspor ke luar Indonesia sebagai bahan baku obat bahan alam dan kosmetik alami (Pribadi,2009).

Salah satu aktivitas biologi penting adalah sifat sebagai antioksidan dari tanaman obat yang dapat digunakan untuk mengurangi stress oksidatif yang disebabkan oleh paparan radikal bebas. Stress oksidatif merupakan keadaan kerika radikal bebas di dalam tubuh melebihi kapasitas tubuh untuk menetralkannya. Korac dan Khambholja (2011) menyatakan bahwa ekstrak yang memiliki akitivitas antioksidan dapat bekerja sebagai agen pelindung dari paparan sinar Ultra-Violet (UV), sehingga penuaan ekstrinsik dapat dihindari. Polifenol, sebagai salah satu antioksidan kuat merupakan senyawa kimia dengan banyak gugus hidroksi (-OH) yang dalam konsentrasi kecil mampu mencegah oksidasi substrat. Radikal bebas terbukti sangat berpengaruh terhadap kerusakan serat elastin yang menyebabkan penurunan elastisitas kulit (Weihermann *et al.*, 2017).

Degradasi elastin oleh enzim elastase menyebabkan penurunan elastisitas kulit. Elastin, yaitu sebuah protein pada kulit dan jaringan tubuh yang menjaga kulit tetap fleksibel dan kencang bersama-sama dengan kolagen. Elastin memberikan kesan elastis sedangkan kolagen bertugas memberikan kesan kaku pada jaringan ikat. Enzim elastase merupakan enzim protease yang dapat berkerja mendegradasi elastin di kulit oleh adanya paparan sinar UV. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa kosmetik *anti-aging* dengan efek *anti-wrinke* berhubungan dengan penurunan aktivitas anti elastase, dimana aktivitas anti elastase akan menurunkan degradasi elastin sehingga elastisitas kulit terjaga (Moon JY, 2010).

Tumbuhan suku *Rutaceae* telah sering digunakan dalam pengobatan tradisional masyarakat Papua. Salah satu tanaman yang sering digunakan dari suku *Rutaceae* adalah zodia (*Evodia suaveolens*) yang digunakan sebagai repelant nyamuk dan penghilang bau badan. Dalam penelitian Kardinan (2004) zodia mengandung evodiamin, linalool (46%), α -pinena (13,26%) dan rutaekarpin. Tanaman zodia juga telah diuji toksisitasnya menggunakan *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) dengan nilai LC₅₀ sebesar 131,34 ppm (Lestari MS, 2015). Kandungan polifenol sebagai salah satu

antioksidan bersifat kuat diperkirakan berperan dalam penghambatan degradasi elastin di kulit.

Tanaman yang memiliki kandungan polifenol (antioksidan) yang tinggi dapat berpotensi digunakan sebagai bahan baku kosmetika, terutama kosmetika pencegah kerutan (*anti-wrinkle*). Berdasarkan hal tersebut dilakukan penelitian yang bertujuan untuk mengetahui potensi ekstrak etanol 96% daun dan buah zodia sebagai antioksidan dengan menggunakan metode DPPH dan anti elastase secara *in-vitro*.

METODE

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah simplisia buah dan daun tanaman zodia, etanol 96%, aquadest, 1,1-difenil-2-pikrihidrazin (DPPH) (Sigma D9132), Vitamin C pro analisis (ASEAN reference standart I103122), amonia, kloroform, asam klorida, eter, asam asetat anhidrat, asam sulfat, serbuk megnesium, asam klorida, amil alkohol, besi (III) klorida, formaldehida, natrium asetat, natrium hidroksida, petroleum eter, alkohol, metanol proanalisis, pereaksi Tris (Sigma T1503), *Elastase from porcine pancreas* (Sigma E1250), substrat SANA (N- Succinyl-(Alanin)3-*p*-nitroanilide) (Sigma 54700).

Metode

Persiapan Bahan

Simplisia daun dan buah tanaman zodia (*Evodia suaveolens* J. R. Forst & G. Forst.) diperoleh dari BALITTRO (Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat), Bogor, Jawa Barat. Determinasi dilakukan di Pusat Penelitian Biologi Herbarium Bogoriense, Bidang Botani, LIPI-Cibinong, Bogor.

Pembuatan Ekstrak

Sebanyak 250 g simplisia daun dan buah zodia masing-masing di ekstraksi dengan metode refluks menggunakan pelarut etanol 96% dengan menggunakan labu alas bulat ukuran 1 L selama 60 menit. Setelah 60 menit, maserat disaring dengan kertas saring, dan dipekatkan dengan rotavapor pada suhu 40 °C dan tekanan 175 mbar hingga didapat ekstrak kental etanol 96%.

Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan untuk mengetahui kandungan golongan senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, tannin, kuinon, steroid, minyak atsisi dan kumarin. Keberadaan senyawa alkaloid dideteksi dengan pereaksi Dragendorf dan Mayer, golongan flavonoid menggunakan pereaksi Shinoda, saponin



menggunakan uji buih, tannin menggunakan pereaksi Stiasny, kuinon menggunakan NaOH, steroid menggunakan Lieberman-Burchard, minyak atsiri dan kumarin dengan pereaksi amonia (Harborne, 1987).

Uji Aktivitas Antioksidan Metode DPPH dan IC₅₀

Uji aktivitas antioksidan dilakukan berdasarkan Artanti *et al.* (2016). Ekstrak daun dan buah zodia dengan konsentrasi masing-masing 100, 200, 300, 400 dan 500 ppm diuji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH. Vitamin C digunakan sebagai standar positif dan pengujian dilakukan tiga kali pengulangan (triplo). Nilai yang diperoleh pada saat aktivitas sebesar 50% ditentukan sebagai nilai IC₅₀.

Uji Aktivitas Anti Elastase

Pengujian aktivitas anti elastase dilakukan berdasarkan metode yang telah dilakukan oleh Thring *et al.* (2009). Konsentrasi daun zodia yang digunakan dalam uji aktivitas anti elastase adalah 6,25; 12,5; 25; 50 dan 100 ppm, sedangkan untuk buah zodia adalah 18,75; 37,5; 75; 150 dan 300 ppm. *Epigallocatechin gallate* (EGCG) digunakan sebagai kontrol positif. Pengujian dilakukan menggunakan 96 well plate. Tiap sumuran diisi dengan 20 µL larutan enzim elastase (konsentrasi 200 µg/mL) dan ditambahkan 10 µL sampel. Setelah diinkubasi selama 15 menit pada suhu ruang, 10 µL substrat *N-Succinyl-Ala-Ala-Ala-p-nitroanilide* ditambahkan dan inkubasi dilanjutkan kembali selama 20 menit. Pembacaan aktivitas dilakukan dengan menggunakan ELISA reader pada panjang gelombang 405 nm sebagai absorpsi pelepasan *para*-nitroanilin.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Determinasi Tanaman

Hasil determinasi simplisia di laboratorium Herbarium Bogoriense menunjukkan bahwa simplisia merupakan tanaman *Evodia suaveolens* J. R. Forst & G. Forst dari suku *Rutaceae*.

Hasil Ekstraksi

Ekstraksi senyawa pada daun dan buah zodia dilakukan dengan menggunakan pelarut 96% etanol dikarenakan sifatnya yang mampu menarik senyawa-senyawa bioaktif golongan alkaloid, flavonoid, tanin dan polifenol. Rendemen ekstraksi yang diperoleh untuk daun zodia sebesar 11.17% (24.9 g) dan buah zodia sebesar 12.06% (30.2 g).

Penapisan Fitokimia

Penapisan fitokimia pada ekstrak kental daun dan buah zodia menunjukkan tidak ada perbedaan golongan senyawa yang terkandung didalamnya ketika diekstraksi dengan menggunakan pelarut 96% etanol. Hasil penapisan fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak kental daun dan buah zodia mengandung alkaloid, flavonoid, saponin, tanin katekuat, steroid dan minyak atsiri (**Tabel 1**), identik dengan penelitian yang telah dilaporkan oleh Mutakin *et al.* (2021).

Aktivitas Antioksidan

Aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode penghambatan radikal bebas DPPH menunjukkan

Tabel 1. Kandungan Fitokimia

Penapisan	Ekstrak Etanol 96%	
	Daun	Buah
Alkaloid	-	-
Flavonoid	+	+
Saponin	+	+
Tanin katekuat	+	+
Tanin galat	-	-
Kuinon	-	-
Steroid	+	+
Triterpenoid	-	-
Minyak atsiri	+	+

Keterangan: Terdeteksi (+) dan Tidak terdeteksi (-)



Tabel 2. Aktivitas Antioksidan Daun dan Buah Zodia

Sampel	IC ₅₀ (ppm)
Vitamin C	1,74 ± 0,04
Ekstrak kental 96% daun zodia	264.15 ± 8,04
Ekstrak kental 96% buah zodia	121,59 ± 2,37

bahwa nilai IC₅₀ ekstrak kental etanol 96% buah zodia memiliki aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dari daun zodia (**Tabel 2**). Nilai IC₅₀ merupakan nilai yang menunjukkan kemampuan penghambatan 50% radikal bebas oleh suatu konsentrasi sampel. Semakin kecil nilai IC₅₀ menunjukkan semakin tinggi aktivitas antioksidan. Aktivitas antioksidan dari suatu senyawa dapat digolongkan berdasarkan nilai IC₅₀ yang diperoleh. Nilai IC₅₀ dibedakan menjadi sangat kuat (IC₅₀ < 50 ppm), kuat (IC₅₀ 50 -100 ppm), sedang (IC₅₀ 100 -150 ppm), lemah (IC₅₀ 150 -200 ppm) dan sangat lemah (IC₅₀ > 200 ppm) (Molyneux, 2004).

Ekstrak buah zodia merupakan ekstrak yang lebih aktif dibandingkan daun zodia, sehingga yang dilanjutkan untuk uji aktivitas anti elastase hanya ekstrak buah zodia. Hal tersebut didasarkan pada hasil uji aktivitas antioksidan dan penapisan fitokimia. Meskipun ekstrak kental daun dan buah zodia memiliki kandungan golongan kimia yang sama, akan tetapi konsentrasi yang terdapat pada ekstrak daun zodia memiliki kadar yang lebih rendah yang ditunjukkan oleh lemahnya intensitas warna pada uji kadar flavonoid.

Kandungan flavonoid dengan intensitas warna yang tinggi menunjukkan kadar flavonoid tinggi di dalam buah zodia. Flavonoid merupakan senyawa fenolik yang diketahui memiliki beberapa aktivitas biologis, salah satunya adalah sebagai antioksidan (Panche *et al.*, 2016). Sebagai antioksidan, flavonoid dapat menangkap radikal bebas yang dapat merusak sel tubuh (Pietta, 2000). Radikal bebas merupakan hasil samping proses metabolisme normal yang dapat melibatkan oksigen, seperti senyawa oksigen reaktif (SOR) dan senyawa nitrogen reaktif (SNR). Reaktivitas SOR dan SNR disebabkan adanya elektron tidak berpasangan (radikal) pada molekulnya sehingga dapat menarik elektron-elektron molekul lain disekitar senyawa radikal tersebut. Akumulasi SOR dan SNR dalam jumlah yang tidak wajar didalam tubuh akan mengakibatkan *oxidative stress* yang dapat menyebabkan kerusakan sel, gangguan fungsi sel, bahkan kematian sel (Trachootham *et al.*, 2009). Molekul penting di dalam tubuh yang rentan dirusak oleh radikal bebas yaitu *deoxyribonucleic acid* (DNA), lemak, dan protein (Shukla *et al.*, 2011).

Aktivitas Anti Elastase

Ekstrak buah zodia yang memiliki aktivitas antioksidan selanjutnya dilakukan uji aktivitas anti elastase secara *in-vitro*. Hasil uji aktivitas anti-elastase terhadap kontrol positif EGCG dan ekstrak kental etanol 96% buah zodia menunjukkan bahwa ekstrak buah zodia memiliki IC₅₀ sebesar 145,67 ± 15,53 ppm jauh lebih rendah dibandingkan kontrol positif EGCG dengan IC₅₀ 4,41 ± 0,18 ppm.

Penuaan atau *aging* merupakan salah satu proses alami yang terjadi, telah lama diyakini bahwa salah satu penyebab penuaan adalah akibat akumulasi kerusakan sel oleh radikal bebas (Harman, 1950; Stadtman, 1992; Kirkwood dan Kowald, 2012). Dari hasil uji antioksidan dan anti elastase terdapat korelasi dimana buah zodia dengan aktivitas antioksidan yang lemah juga memiliki aktivitas anti elastase yang rendah.

SIMPULAN

Hasil uji aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode penghambatan DPPH menunjukkan bahwa ekstrak kental etanol 96% daun dan buah zodia memiliki aktivitas sebagai antioksidan. Uji aktivitas *anti-aging* secara *in-vitro* dengan menggunakan enzim elastase terhadap ekstrak buah zodia menunjukkan bahwa ekstrak tersebut memiliki aktivitas yang lemah sebagai anti elastase.

UCAPAN TERIMAKASIH

Kami mengucapkan terima kasih kepada laboratorium Fakultas Farmasi Universitas Pancasila untuk fasilitas yang telah diberikan selama penelitian berlangsung.

DAFTAR PUSTAKA

- Artanti N, Maryani F, Mulyani H, Dewi RT, Saraswati V, Murniasih T. 2016. Bioactivities Screening of Indonesian Marine Bacteria Isolated from Sponges. *Annales Bogoriensis*. 20(1): 23-28
- Harborne JB. 1987. Metode fitokimia penuntun cara modern menganalisis tumbuhan. Edisi II. Diterjemahkan oleh Padmawinata K., Soediro I. Bandung: ITB; 1987.



- Harman D. 1956. Aging: A Theory Based on Free Radical and Radiation Chemistry. *J Gerontol.* 11: 298-300.
- Kardinan A. 2004. Zodia (*Evodia suaveolens*) Tanaman Pengusir Nyamuk. *Tabloid Sinar Tani*, 23 Juni 2004.
- Kirkwood TB and Kowald A. 2012. The Free-Radical Theory of Aging - Older, Wiser and Still Alive: Modelling Positional Effects of The Primary Targets of ROS Reveals New Support. *Bioassays.* 34: 692-700.
- Korac RR, Khambholja KM. 2011. Potential of Herb in Skin Protection from Ultraviolet Radiation. *Pharmacognosy Reviews.* 5(10): 164-173.
- Lestari MS, Himawan T, Abadi AL, Retnowati R. 2015. Toxicity and phytochemistry test of methanol extract of several plants from papua using Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *JOCPR.* 7(4): 866-871
- Moeloe FA. 2006. Herbal Traditional Medicine: National perspective and policies in Indonesia. *Jurnal Bahan Alam Indonesia.* 5(1): 293-297.
- Molyneux P. 2004. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin J. Sci. Technol.* 26(2): 211-219
- Moon JY, Yim EY, Song G, et.al. 2010. Screening of elastase and tyrosinase inhibitory activity from Jeju Island plants. *EurAsia J BioSci.* 4: 41-45.
- Mutakin, Yunita W and Nikodemus TW. 2021. Isolation and Characterization of Chemical Compounds From n-Hexane Extract of Zodia (*Evodia suaveolens* Scheff.) Leaves. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology.* 8(2): 86-95.
- Panche AN, Diwan AD and Chandra SR. 2016. Flavonoids: An Overview. *Journal of Nutritional Sciences.* 5(47): 1-15.
- Pietta Pier-Georgio. 2000. Flavonoids as Antioxidant. *Journal of Natural Products.* 63: 1035-1042.
- Pribadi ER. 2009. Pasokan permintaan tanaman obat Indonesia serta arah penelitiannya dan perkembangannya. *Perspektif.* 8(1): 52-54.
- Stadtman ER. 1992. Protein oxidation and aging. *Science.* 257: 1220–1224.
- Shukla V, Mishra SK and Pant HC. 2011. Oxidative Stress in Neurodegeneration. *Advances in Pharmacological Sciences.* 2011: 1-15
- Thring SA, Hill P, and Naughton PD. 2009. Anti-collagenase, anti-elastase, and anti-oxidant activities of extracts from 21 plants. *BMC Complementary and Alternative Medicine.* 9(27): 1-10.
- Trachootham D, Alexandre J and Huang P. 2009. Targeting Cancer Cells by ROS-mediated Mechanisma: A Radical Therapeutic Approach? *Nature Review Drug Discovery.* 8: 579-591
- Weihermann AC, Lorencini M, Brohem CA and de Carvalho M. 2017. Elastin Structure and Its Involvement in Photoageing. *International Journal of Cosmetic Science.* 39: 241-247

